10 Các bệnh thối rễ và thân có nguồn gốc từ đất

Các bệnh thối rễ và thân do tác nhân gây bệnh tồn tại trong đất là nguyên nhân gây thiệt hại năng suất nghiêm trọng cho cây trồng ở Việt Nam. Tính chất trồng trọt quanh năm tại các vùng châu thổ Việt Nam, sự lan truyền của các tác nhân gây bệnh trong nước tưới, thoát nước kém, cây giống không sạch bệnh và khí hậu nhiệt đới là những yếu tố tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của các bệnh này.

Bệnh do các tác nhân có nguồn gốc từ đất gây ra các triệu chứng không điển hình, như còi cọc, vàng lá, héo và chết cây. Cần lưu ý rằng một số tác nhân gây bệnh khác cũng như sâu đục thân, sùng cuốn ăn rễ, và những điều kiện đất bất lợi cũng có thể gây ra những triệu chứng này.

Những bệnh này do một số tác nhân gây bệnh phổ biến, bao gồm nấm, vi khuẩn gây bệnh và tuyến trùng ký sinh thực vật.

Những tác nhân gây bệnh liệt kê ở Bảng 10.1 có những đặc tính chính sau:

- chúng tồn tại trong đất qua một thời gian dài khi không có mặt ký chủ, và nguồn bệnh trong đất tăng dần qua vài năm (chu kỳ mùa vụ)
- chúng đều có phổ ký chủ rộng, ngoại trừ các dạng loài (formae speciales) của *Fusarium oxysporum*
- chúng có thể lan truyền theo:
  - nước tưới
  - đất do động vật và người mang
  - giống bị nhiễm bệnh (củ khoai tây, củ gừng, cây giống)
- chúng thường không phân tán nhờ gió.

Vi khuẩn gây bệnh héo cũng có thể tồn tại trong hạt giống.

Bảng 10.1 Các đặc tính của các tác nhân gây bệnh phổ biến tồn tại trong đất ở Việt Nam

Tác nhân gây bệnh	Bệnh	Phổ ký chủ	Tồn tại (bảo tồn)	Nhận xét
Pythium species[a] (như *P. aphanidermatum*[a], *P. myriotilum*[a], *P. spinosum*[a])	Chết cây con, thối rễ con, thối rễ	Rộng	Bào tử trứng trong đất	Du động bào tử lan truyền qua nước trong đất và nước mưa hoặc nước tưới
Phytophthora palmivora[a]	Nhiều bệnh ở rễ, thân, lá và quả của cây trồng lâu năm	Rộng	Bào tử hậu, sợi nấm trong tàn dư cây bệnh và có thể cả bào tử trứng trong đất	Du động bào tử lan truyền qua nước trong đất và nước mưa hoặc nước tưới
Phytophthora capsici[a]	Thối gốc (héo nhanh) hồ tiêu, thối rễ ớt và các bệnh khác	Rộng	Bào tử hậu, sợi nấm trong tàn dư cây bệnh trên ruộng và có thể cả bào tử trứng trong đất	Du động bào tử lan truyền qua nước trong đất và nước mưa hoặc nước tưới
Phytophthora nicotianae[a]	Thối nõn dứa và các bệnh khác	Rộng	Bào tử hậu, sợi nấm trong tàn dư cây bệnh và có thể cả bào tử trứng trong đất	Bào tử hậu trong đất, du động bào tử lan truyền qua nước trong đất và nước mưa hoặc nước tưới
Fusarium oxysporum, f. sp. *lycopersici*[a]	Héo Fusarium	Cà chua	Bào tử hậu trong đất, xâm nhiễm cả rễ cây không phải là ký chủ	Mạch dẫn hóa nâu
Fusarium oxysporum, f. sp. *pisi*[a]	Héo Fusarium	Đậu Hà lan	Bào tử hậu trong đất, xâm nhiễm cả rễ cây không phải là ký chủ	Mạch dẫn hóa nâu
Fusarium oxysporum, f. sp. *cubense*[a]	Héo Fusarium	Chuối	Bào tử hậu trong đất, xâm nhiễm cả cây không phải là ký chủ; trong nguồn giống	Mạch dẫn hóa nâu
Sclerotinia sclerotiorum	Thối thân và quả	Rộng	Hạch nấm lớn, màu đen trong đất	Hạch nấm là dấu hiệu chẩn đoán trên đồng ruộng
Sclerotium rolfsii	Thối gốc thân	Rộng	Hạch nấm tròn, nhỏ, màu nâu trong đất	Hạch nấm là dấu hiệu chẩn đoán trên đồng ruộng

Tác nhân gây bệnh	Bệnh	Phổ ký chủ	Tồn tại (bảo tồn)	Nhận xét
Rhizoctonia sp.[a]	Chết cây con, thối rễ và thân	Rộng	Hạch nấm hoặc sợi nấm điển hình trên tàn dư cây bệnh trong đất	Hạch nấm là dấu hiệu chẩn đoán cho một số loài trên đồng ruộng; sợi nấm phân nhánh vuông góc trong mẫu cấy trên môi trường
Verticillium albo-atrum[ab]	Héo Verticillium	Rộng	Sợi nấm trong tàn dư cây bệnh	Mạch dẫn hóa nâu
Verticillium dahliae[ab]	Héo Verticillium	Rộng	Hạch nấm cực nhỏ trong đất, sợi nấm trong tàn dư cây bệnh	Mạch dẫn hóa nâu
Ralstonia solanacearum[a]	Héo vi khuẩn	Rộng	Vi khuẩn trong đất, tàn dư cây bệnh và vật liệu nhân giống	Thân hóa nâu và dịch khuẩn là những đặc tính chẩn đoán trên đồng ruộng
Meloidogyne	Tuyến trùng nốt sưng	Rộng	Tuyến trùng ngủ nghỉ trong đất	Tuyến trùng cái sống trong nốt sưng rễ - một đặc tính chẩn đoán
Tuyến trùng gây loét rễ[a]	Gây vết bệnh trên rễ và làm cây còi cọc	Rộng	Tuyến trùng ngủ nghỉ trong đất	Có thể nhìn thấy các vết loét trên rễ bằng kính lúp cầm tay
Plasmodiophora brassicae	Sưng rễ cây thuộc họ thập tự	*Brassica* và *Raphanus*	Bào tử ở dạng bảo tồn trong đất	Các triệu chứng sưng rễ có thể chẩn đoán được trên đồng ruộng; thêm vôi vào đất để phòng trừ

a Việc chẩn đoán chính xác những tác nhân gây bệnh này phụ thuộc vào quá trình phân lập và giám định sau đó trong phòng thí nghiệm. Cần thực hiện thí nghiệm lây bệnh nhân tạo để chứng minh chúng là tác nhân gây bệnh chính trên các ký chủ tại địa phương, trừ khi việc lây bệnh nhân tạo đã được thực hiện trước đây ở Việt Nam.

b Những loài này chưa được chính thức ghi nhận ở Việt Nam.

Những tác nhân gây bệnh này thường bị bỏ sót do khó giám định (xem Khung 10.1) - đa số những vi sinh vật này chỉ có thể được giám định chính xác trong phòng thí nghiệm.

Hai hoặc nhiều tác nhân gây bệnh này có thể cùng lúc ảnh hưởng đến một cây trồng trong các vùng trồng rau thâm canh ở Việt Nam. Chẳng hạn như một ruộng ớt có thể bị bệnh héo vi khuẩn, thối rễ Phytophthora và thối gốc thân. Sâu đục thân cũng có thể cùng lúc gây hại. Tất cả những tác nhân này đều gây ra cùng triệu chứng (héo và chết).

Lý tưởng nhất là các cây bị bệnh thối rễ và thân được kiểm tra tại phòng thí nghiệm trong vòng vài giờ sau khi thu thập, khi 'còn tươi'. Vì vậy, các phòng thí nghiệm chẩn đoán bệnh cây cơ bản cần được đặt ở các Chi cục Bảo vệ thực vật cấp tỉnh gần khu vực sản xuất nông nghiệp.

Các phòng thí nghiệm chẩn đoán bệnh cây quốc gia như Viện Bảo vệ thực vật ở Hà Nội có thể giám định mẫu vi sinh vật nuôi cấy, mẫu tiêu bản, vi rút, tuyến trùng và vi khuẩn gây bệnh thực vật.

Khung 10.1 Lưu ý khi chẩn đoán: phân biệt héo mạch dẫn do thối rễ và thối thân

Trong một số trường hợp rất khó quyết định nguyên nhân của các triệu chứng không điển hình như còi cọc, vàng lá và héo. Các bệnh gây héo mạch dẫn và các bệnh thối rễ, thối thân thường gây ra các triệu chứng này. Sơ đồ dưới đây hướng dẫn cách phân biệt các bệnh này.

Thân (mạch dẫn) bị nâu + có dịch khuẩn*	→	Héo vi khuẩn
Thân (mạch dẫn) bị nâu + không có dịch khuẩn	→	Héo Fusarium hoặc Héo Verticillium
Thân (mạch dẫn) không hóa nâu + không có dịch khuẩn	→	Tác nhân gây bệnh thối rễ và thân (do nấm hoặc vi sinh vật giống nấm) hoặc Tuyến trùng ký sinh thực vật hoặc Sưng rễ

Ghi chú: Dịch khuẩn có thể khó phát hiện trong những giai đoạn đầu khi cây mới nhiễm bệnh do *Ralstonia solanacearum*.

Có thể dễ nhầm lẫn héo Fusarium với héo vi khuẩn và héo Verticillium (hiện là một bệnh ngoại lai ở Việt Nam). Chúng gây ra các triệu chứng tương tự và đều gây hiện tượng hóa nâu mạch dẫn. Tuy nhiên, cây bị héo do vi khuẩn thường được chẩn đoán nhờ sự xuất hiện của dịch khuẩn. Nếu không có dấu hiệu của dịch khuẩn thì nên phân lập để xác định xem nguyên nhân là do *F. oxysporum* hay *Verticillium*. Các dạng loài của *F. oxysporum* có thể được phân biệt dễ dàng với *Verticillium albo-atrum* và *V. dahliae* trên môi trường nhân tạo. Các tản nấm *Verticillium* mọc chậm so với các tản nấm *F. oxysporum*.

Luôn luôn lây bệnh nhân tạo cho các mẫu *Fusarium* phân lập từ rễ trước khi kết luận chúng là tác nhân gây bệnh.

Các loài *Fusarium* chủ yếu gây các bệnh héo và thối thân củ, rễ củ trên rau và hoa. Chúng không phải là tác nhân phổ biến gây bệnh thối rễ. Tuy nhiên, nấm *F. oxysporum* và *F. solani* thường sống hoại sinh trên các mô rễ ảnh hưởng bởi các tác nhân gây bệnh khác, và dễ dàng được phân lập trên môi trường không chọn lọc.

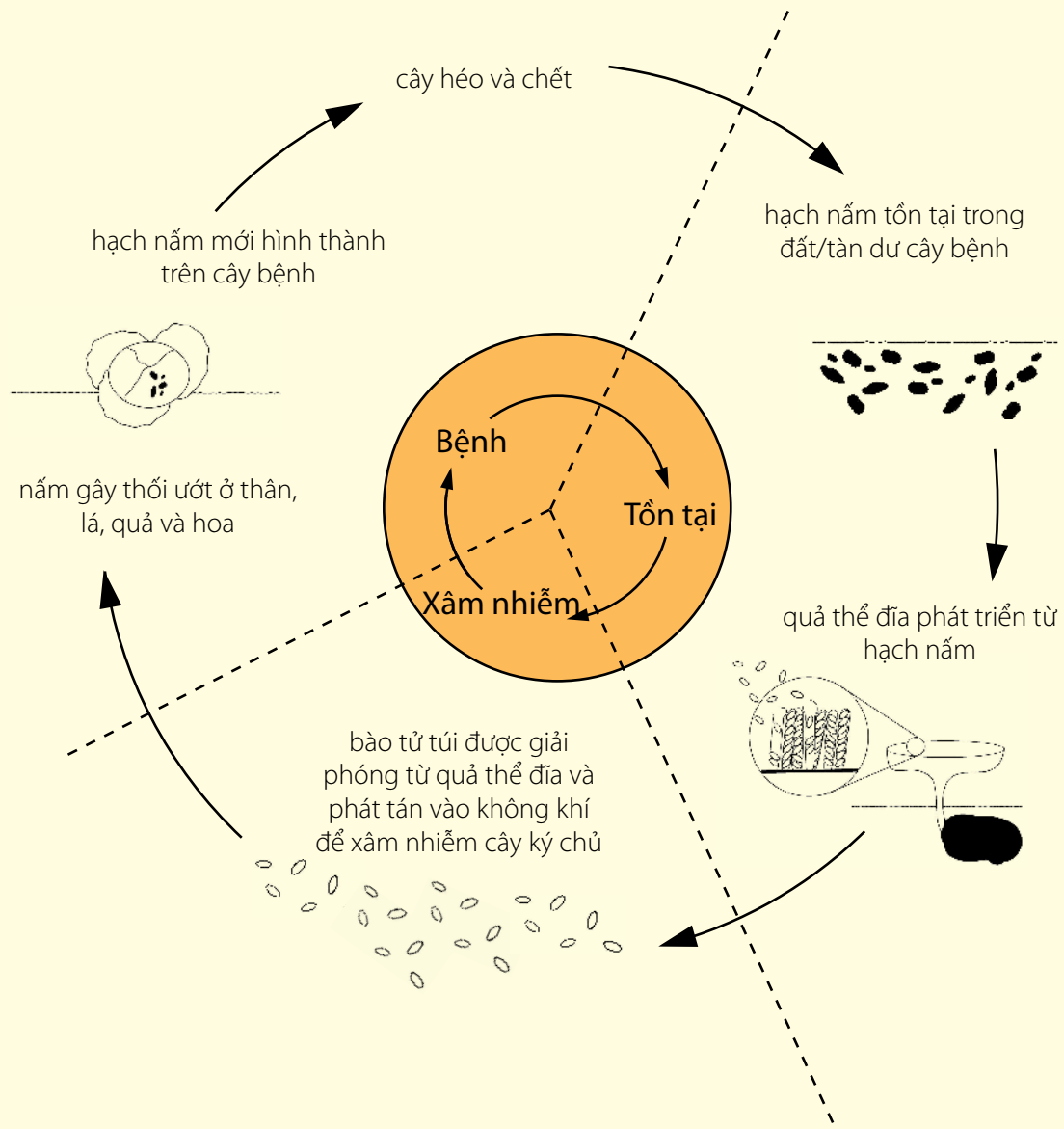
10.1 *Sclerotinia sclerotiorum*

Bảng 10.2 cung cấp thông tin về *Sclerotinia sclerotiorum*, một loại nấm gây thối ở thân, quả và hoa.

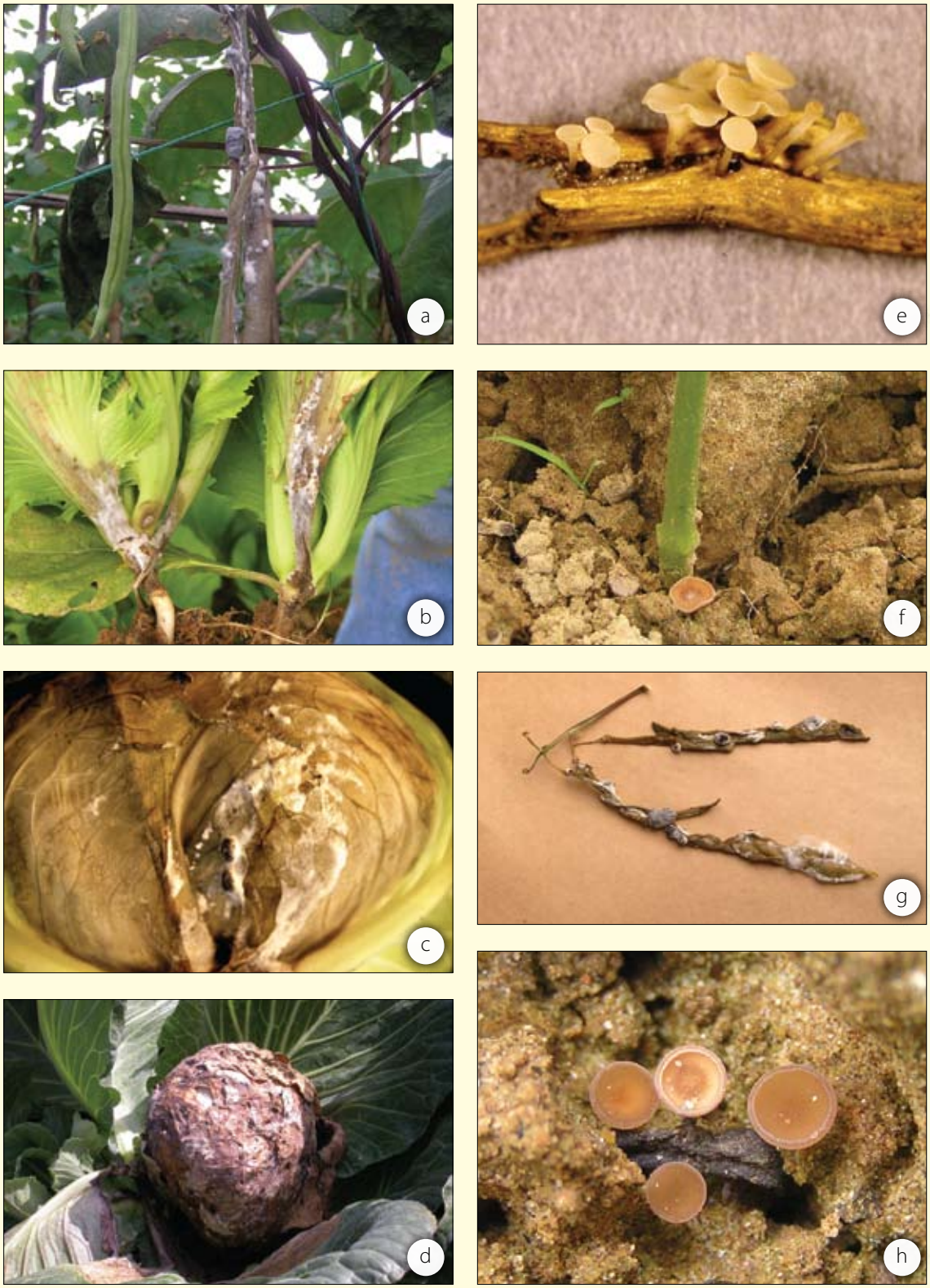
Bảng 10.2 Đặc tính của *Sclerotinia sclerotiorum*

Các triệu chứng chính	Thối ướt mô cây
Các dấu hiệu chẩn đoán	Sự có mặt của sợi nấm màu trắng và các hạch nấm lớn, màu đen với hình dạng bất định
Phổ ký chủ	Gây hại trên nhiều cây trồng hai lá mầm (lá rộng) bao gồm cà chua và khoai tây, xà lách, đậu tương, lạc, đậu cô ve lùn, đậu cô ve leo, cải bắp, súp lơ xanh, súp lơ trắng và bầu bí.
Thời tiết	Thích hợp với thời tiết ẩm ướt và lạnh
Bảo tồn	Hạch nấm tồn tại trong đất qua thời gian dài. Trong điều kiện hơi ẩm, hạch nấm nảy mầm tạo ra quả thể đĩa. Các quả thể đĩa tạo ra các bào tử túi xâm nhiễm vào cây.
Xâm nhiễm	Bào tử túi được sinh ra từ quả thể đĩa. Các bào tử túi thường xâm nhiễm vào cây ở vị trí nách lá. Các cánh hoa già cũng tạo điều kiện thuận lợi cho nấm bệnh trong quá trình xâm nhiễm.
Phòng trừ	Luân canh với các cây trồng như ngô và bông, tránh để tán cây quá dày (tán dày làm cho độ ẩm bên trong cao tạo điều kiện thuận lợi cho nấm bệnh xâm nhập).
Phân lập	1. Khử trùng bề mặt thân cây bệnh bằng cách nhúng trong cồn êtyl 70% và để khô trên giấy đã khử trùng (giấy lau mặt hoặc giấy vệ sinh chất lượng cao cũng có thể dùng được). 2. Cắt những miếng cấy từ ranh giới giữa mô khỏe và mô bệnh rồi dùng dụng cụ vô trùng cấy lên môi trường thạch đường khoai tây. 3. Làm thuần bằng phương pháp cấy đỉnh sinh trưởng sợi nấm. Nấm cũng có thể được phân lập từ hạch nấm: 1. Khử trùng bề mặt hạch nấm 1 phút trong cồn êtyl 70%. 2. Rửa lại bằng nước vô trùng và để tự khô. 3. Cắt đôi hạch nấm. 4. Cấy miếng hạch lên môi trường thạch đường khoai tây sao cho mặt cắt tiếp xúc với mặt thạch.

Hình 10.1 minh họa chu kỳ bệnh của *Sclerotinia sclerotiorum* và Hình 10.2 là một loạt các hình ảnh cho thấy sự gây hại của *Sclerotinia sclerotiorum* trên nhiều cây trồng khác nhau, cũng như các hạch nấm và quả thể đĩa.



Hình 10.1 Chu kỳ bệnh *Sclerotinia sclerotiorum*



Hình 10.2 *Sclerotinia sclerotiorum* gây hại: (a) đậu cô ve leo, (b) xà lách, (c) cải bắp (thối ướt), (d) cải bắp, (e) quả thể đĩa từ hạch nấm ở tàn dư cây đậu tương; (f) quả thể đĩa cạnh cây đậu cô ve lùn; (g) đậu cô ve leo (hạch nấm hình thành trên quả đậu); (h) hạch nấm nảy mầm tạo ra quả thể đĩa

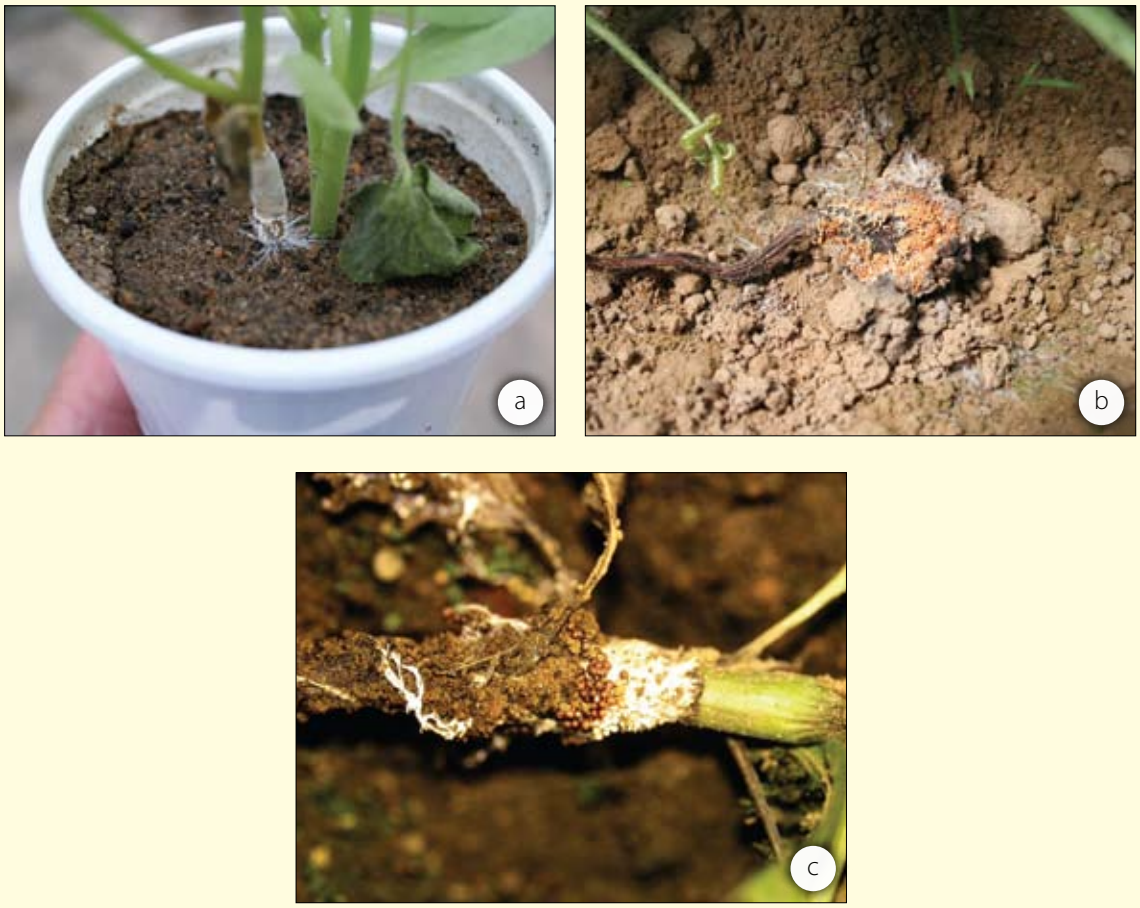
10.2 *Sclerotium rolfsii*

Bảng 10.3 cung cấp thông tin về *Sclerotium rolfsii*, nấm gây thối gốc thân.

Bảng 10.3 Đặc tính của *Sclerotium rolfsii*

Các triệu chứng chính	Gây thối ở gốc thân, cây bệnh héo và chết.
Các dấu hiệu chẩn đoán	Các sợi nấm màu trắng và các hạch nấm nhỏ màu nâu tròn dạng hạt cải được hình thành trên bề mặt gốc thân bị bệnh. Các sợi nấm trắng phát triển mạnh khi bệnh lan từ cây bệnh sang cây khỏe.
Phổ ký chủ	Phổ ký chủ rộng bao gồm cà chua, ớt, bầu bí, đậu cô ve, cà rốt và hành. Nấm bệnh thường xâm nhiễm vào các cây trồng đã bị ảnh hưởng bởi các tác nhân gây bệnh khác.
Thời tiết	Bệnh trầm trọng nhất trong điều kiện thời tiết ấm đến nóng, mưa hoặc ẩm.
Bảo tồn	Tồn tại dưới dạng hạch nấm trong đất qua thời gian dài.
Xâm nhiễm	Sợi nấm phát triển từ hạch nấm xâm nhiễm vào cây qua gốc thân. Quá trình xâm nhiễm sẽ nhanh và mạnh hơn ở những nơi có tàn dư cây bệnh sót lại trên bề mặt đất. Các sợi nấm có thể mọc lan đến vài cm trên mặt đất từ cây hoặc mô bị bệnh để xâm nhiễm những cây gần đó.
Phòng trừ	Luân canh. Đưa nước ngập ruộng trong quá trình trồng hai vụ lúa nước liên tiếp sẽ diệt trừ tất cả các hạch nấm trong đất.
Phân lập	Có thể phân lập nấm trên môi trường thạch đường khoai tây từ mô thân đã được khử trùng bề mặt, cắt miếng cấy từ ranh giới giữa mô bệnh và mô khỏe. Các mẫu *S. rolfsii* cũng có thể được phân lập từ hạch nấm: 1. Khử trùng bề mặt hạch nấm 1 phút trong cồn êtyl. 2. Rửa lại trong nước vô trùng và để tự khô. 3. Cắt hạch làm đôi và cấy lên môi trường thạch đường khoai tây sao cho mặt cắt tiếp xúc với mặt thạch.

Hình 10.3 đặc điểm của *Sclerotium rolfsii*.



Hình 10.3 *Sclerotium rolfsii:* (a) trong thí nghiệm lây bệnh nhân tạo (chú ý các sợi nấm lan ra), (b) trên dưa hấu đã bị thối, (c) thối gốc với sự hình thành các hạch nấm hình cầu màu nâu

10.3 Các loài *Rhizoctonia*

Có nhiều loài và chủng *Rhizoctonia* ở Việt Nam. Những loài này khá đa dạng về phân bố và phổ ký chủ của chúng. Việc giám định hình thái đến loài là rất khó.

Ở Việt Nam có nhiều bệnh do *Rhizoctonia* gây ra (Hình 10.4). Một số loài phát triển, xâm nhiễm, gây bệnh trên thân cây và bề mặt lá trong điều kiện thời tiết ấm, mưa hoặc ẩm độ cao. Ví dụ, một loài *Rhizoctonia* xâm nhiễm vào lá ngô và gây ra triệu chứng bệnh khô vằn điển hình trên lá (Hình 10.4d). Người ta cho rằng cũng loài đó, hoặc một loài tương tự, gây thối bắp cải bắp. Những nấm này có thể sinh ra các hạch nấm màu nâu với hình dạng bất định trên bề mặt cây bị bệnh. *Rhizoctonia oryzae* gây bệnh khô vằn trên lúa, một bệnh rất phổ biến.

Hình 10.4 Các ví dụ về bệnh Rhizoctonia: (a) triệu chứng nhọn như đầu mác ở rễ bệnh, (b) bệnh khô vằn trên lúa do *Rhizoctonia*, (c) hạch nấm của *Rhizoctonia* trên cải bắp bị bệnh, (d) bệnh do *Rhizoctonia* trên vỏ ngô

Các loài *Rhizoctonia* cũng gây hiện tượng lở cổ rễ cây con như đậu cô ve, cải bắp, lạc và bông. Triệu chứng lở cổ rễ do nấm xâm nhiễm ở phần cổ rễ sát mặt đất có thể làm chết cây con.

Bệnh thối rễ *Rhizoctonia* hình thành do nấm xâm nhập vào cây ở đỉnh sinh trưởng của các rễ phụ nhỏ. Nấm sau đó phát triển từ đầu rễ và lan vào rễ chính làm thối rễ. *Rhizoctonia* xâm nhiễm ở đỉnh sinh trưởng của rễ con thường đưa đến triệu chứng 'đầu mác' ở rễ (Hình 10.4a).

Bảng 10.4 cho thấy những đặc điểm của nấm *Rhizoctonia*, là nấm gây ra nhiều bệnh trên nhiều cây trồng khác nhau.

Bảng 10.4 Đặc điểm của các loài *Rhizoctonia*

Triệu chứng chính	Các triệu chứng phụ thuộc vào loài, chủng nấm và cây ký chủ, bao gồm lở cổ rễ cây con, héo, chết cây con, thối rễ con và thối rễ. Thối bắp cải do *Rhizoctonia* gây ra những vết thối đen trên lá. Bệnh khô vằn lúa và khô vằn ngô gây ra các vết bệnh màu vàng và các vết mất màu bất thường xen kẽ.
Dấu hiệu chẩn đoán	Việc chẩn đoán thường phụ thuộc vào quá trình phân lập và giám định nấm thuần trên môi trường nhân tạo. Các hạch nấm điển hình màu nâu, hình dạng bất định được hình thành ở một số loài trên các mô ký chủ bị bệnh.
Phổ ký chủ	Đa dạng, tùy thuộc loài và chủng nấm.
Thời tiết	Thời tiết mưa ướt, ấm tới nóng tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của các bệnh ở lá và thân cây. Các bệnh ở cây con và thối rễ lại gây hại nặng hơn trên cây trồng ảnh hưởng bởi những điều kiện thời tiết không thuận lợi. Ví dụ, cây con đậu cô ve dễ mẫn cảm với bệnh lở cổ rễ khi trời lạnh vì nhiệt độ thấp làm chậm việc nảy mầm và nhú chồi.
Bảo tồn	Các loài *Rhizoctonia* tồn tại trong đất dưới dạng hạch nấm hoặc sợi nấm trong tàn dư cây ký chủ.
Xâm nhiễm	Các sợi nấm *Rhizoctonia* trong tàn dư cây bệnh xâm nhiễm trực tiếp vào mô cây và một số tạo các cấu trúc xâm nhiễm đặc biệt. Hạch nấm nảy mầm tạo ra sợi nấm xâm nhiễm vào cây.
Phòng trừ	Bệnh chết rạp cây con (lở cổ rễ) có thể được giảm thiểu bằng cách xử lý hạt với thuốc trừ nấm như quintozene (pentachloronitrobenzene) và thay đổi thời vụ (ngày) trồng sao cho nhiệt độ và độ ẩm đất có lợi cho nảy mầm và nhú chồi nhanh. Hiệu quả của việc luân canh tùy thuộc vào phổ ký chủ của các loài *Rhizoctonia* là đối tượng phòng trừ.
Phân lập	Nấm bệnh có thể được phân lập dễ dàng từ mẫu bệnh khô vằn lúa, khô vằn ngô và thối bắp cải bằng cách khử trùng bề mặt mô bệnh, cấy lên môi trường thạch nước cất và cấy truyền lên môi trường thạch đường khoai tây có bổ sung kháng sinh. Việc phân lập từ rễ hoặc rễ con bị thối khó khăn hơn: 1. Rửa rễ cho sạch đất. 2. Khử trùng bề mặt trong cồn êtyl 70% trong 5 giây. 3. Rửa lại bằng nước vô trùng và để khô trên giấy thấm đã khử trùng. 4. Cấy các mẩu rễ nhỏ (1-2 mm chiều dài) cắt từ ranh giới giữa mô bệnh và mô khỏe lên môi trường thạch nước cất. 5. Cấy truyền lên môi trường thạch đường khoai tây. *Rhizoctonia* có thể phân biệt được với *Pythium* và *Phytophthora* trên môi trường thạch nước cất bằng đặc điểm hình thái sợi nấm phân nhánh vuông góc và sự có mặt của các sợi nấm sợi lớn có vách ngăn. Hạch nấm có thể hình thành trong môi trường nhân tạo, đặc biệt trên môi trường thạch thân lúa.

10.4 *Phytophthora* và *Pythium*

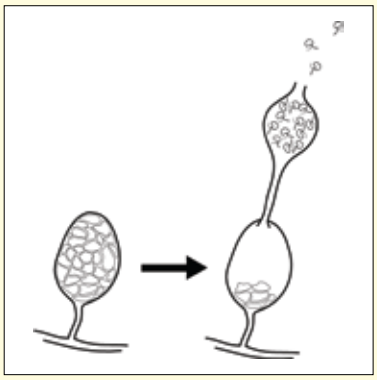
Các chi *Phytophthora* và *Pythium* thuộc lớp Oomycetes trong Giới Chromista. Như vậy, chúng không phải là nấm thực mà là vi sinh vật giống nấm. Những chi này sản sinh ra các sợi nấm không vách ngăn, một đặc điểm chính phân biệt chúng với các chi nấm thực.

10.4.1 Sinh sản vô tính

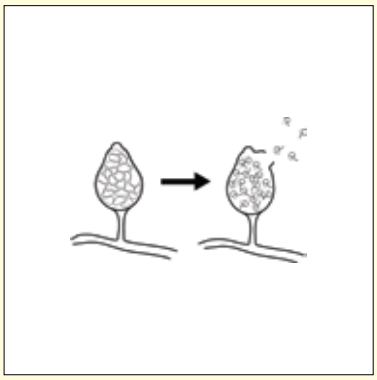
Sinh sản vô tính tạo thành các cấu trúc gọi là bọc bào tử động, nơi hình thành và giải phóng du động bào tử. Những du động bào tử này di chuyển được và có vai trò quan trọng trong chu kỳ bệnh, đặc biệt là chức năng lan truyền trong đất ướt hoặc trên bề mặt cây trồng. Sự hình thành du động bào tử cũng là một đặc điểm phân biệt *Phytophthora* và *Pythium* với các chi nấm thực. Du động bào tử giúp cho việc lan truyền bệnh nhanh chóng từ cây bệnh sang cây khỏe.

Các bọc bào tử động của *Pythium* được hình thành ở đỉnh hoặc đoạn giữa các sợi nấm, hình tròn (hình cầu) hoặc hình sợi (giống như sợi nấm phình ra). Một ống tháo được hình thành từ bọc bào tử của *Pythium*, với một bọc giả có thành rất mỏng hình thành ở cuối ống tháo (Hình 10.5). Tế bào chất di chuyển từ bọc bào tử qua ống tháo vào bọc giả. Các du động bào tử sau đó phát triển trong bọc giả và được tung ra khi màng bọc giả vỡ.

Ngược lại, các loài *Phytophthora* tạo các túi bào tử có những hình dạng nhất định một cách rõ rệt trên cành mang bọc bào tử. Các du động bào tử hình thành trong bọc bào tử và được giải phóng trực tiếp từ bọc bào tử. Một số loài như *P. infestans* và *P. palmivora* tạo các bọc bào tử rất dễ rụng ra khỏi cành mang bọc bào tử và có thể được phân tán nhờ gió.



Pythium



Phytophthora

Hình 10.5 Du động bào tử *Pythium* được giải phóng qua bọc giả (trái), và du động bào tử *Phytophthora* được giải phóng trực tiếp từ bọc bào tử (phải)

Một số loài *Phytophthora*, như *P. cinnamomi*, tạo bào tử hậu trên môi trường nhân tạo. Các bào tử này có chức năng bảo tồn trong đất.

10.4.2 Sinh sản hữu tính

Sinh sản hữu tính liên quan đến sự hình thành các túi noãn (thể 'cái') và túi đực (thể 'đực'). Sau khi thụ tinh, noãn cầu (giao tử 'cái') trong túi noãn phát triển thành bào tử trứng có vách dày. Bào tử trứng là bào tử bảo tồn và có vai trò quan trọng trong chu kỳ bệnh. Bào tử trứng của *Pythium* có thể có vách mịn hoặc dạng trang trí như sừng. Bào tử trứng của *Phytophthora* có vách mịn.

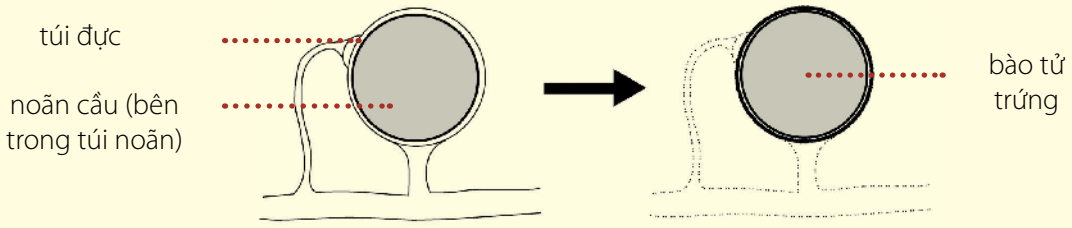
Sterol là chất cần thiết cho việc sản xuất túi noãn. Vì vậy, những nấm này cần được nuôi cấy trên môi trường PCA (thạch cà rốt khoai tây) bởi vì chất chiết từ cà rốt chứa sterol. Môi trường PCA nên có một số vụn chiết cà rốt.

Một số loài *Pythium* có đặc tính dị tản; tuy nhiên, nhiều tác nhân gây bệnh thông thường là đồng tản và tạo các cấu trúc sinh sản hữu tính ngay trong một mẫu cấy đã làm thuần từ đỉnh sinh trưởng của một sợi nấm. Sinh sản hữu tính ở loài đồng tản chỉ cần một cá thể. Sinh sản hữu tính ở loài dị tản đòi hỏi sự kết hợp của hai cá thể có dạng giới tính khác nhau.

Khoảng 50% loài *Phytophthora* là khác tản và đòi hỏi sự kết hợp của hai cá thể có dạng giới tính khác nhau (A1 và A2) để việc sinh sản hữu tính xảy ra. Hình 10.6 minh họa quá trình sinh sản hữu tính ở *Pythium*—cũng trải qua một tiến trình tương tự như ở *Phytophthora*.

10.4.3 Xác định và phân biệt giữa *Phytophthora* và *Pythium*

Các tản nấm của nhiều loài *Phytophthora* và *Pythium* có hình thái tương đối giống nhau trên môi trường nhân tạo. Việc giám định chính xác các loài này có thể dựa vào hình thái của các bọc bào tử và sự sắp xếp của các túi noãn và túi đực. Sự có mặt hoặc vắng mặt của bào tử hậu cũng là một đặc tính trợ giúp cho việc giám định, cũng như hình thái sợi nấm của một số loài *Phytophthora*.



Hình 10.6 Sơ đồ minh họa quá trình sinh sản hữu tính ở *Pythium*, liên quan đến sự tiếp xúc giữa túi đực và túi noãn để tạo ra bào tử trứng

Các loài *Pythium* thường tạo ra rất nhiều sợi nấm bông xốp màu trắng trên môi trường thạch đường khoai tây (PDA), choán ngập đĩa cấy (Hình 10.7). Một số loài *Pythium* mọc rất nhanh, và có thể che kín một đĩa PDA lớn (đường kính 90mm) trong vòng dưới 2 ngày. Ngược lại, các loài *Phytophthora* thường mọc chậm hơn, tạo ra ít sợi nấm trắng hơn. Tuy nhiên, đây không phải là một tiêu chí tin cậy để phân biệt hai chi này.

Hình 10.7 *Pythium sp.* (trái) và *Phytophthora sp.* (phải), cho thấy đặc tính mọc nhanh và tạo thành các sợi nấm khí sinh trên đĩa *Pythium*

Các loài *Pythium* thường sản sinh bọc bào tử và du động bào tử trên môi trường thạch nước cất (WA) hoặc PCA sau khi đổ nước ngập môi trường. Trạng thái sốc với nhiệt độ thấp (5-10°C trong khoảng 2 giờ) có thể giúp cho việc sản sinh bọc bào tử ở *Pythium*. Một số loài *Pythium* đồng tản cũng có thể sản sinh bào tử trứng trên WA. Tuy nhiên, một số mẫu cấy của các loài *Pythium* đồng tản mọc trên môi trường nước vô trùng có chứa lá lúa đã được khử trùng sản sinh rất nhiều túi noãn và túi đực ở điều kiện nhiệt độ thường.

Tham khảo tài liệu mô tả hình thái các loài *Pythium* nhằm giúp việc giám định tới mức độ loài và chuyển mẫu cấy đến các phòng thí nghiệm có uy tín để khẳng định lại kết quả giám định.

Các loài *Pythium* đã phân lập được ở Việt Nam cũng sản sinh bọc bào tử và du động bào tử trên môi trường nước lá lúa.

Một số loài *Phytophthora* sản sinh bọc bào tử trên môi trường chọn lọc cho *Phytophthora* (PSM) nếu được đặt trong điều kiện có chiếu sáng. Một số loài cũng sản sinh bọc bào tử trên PCA, môi trường nuôi cấy đã được chuẩn bị sẵn trong phòng thí nghiệm.

Việc hình thành bọc bào tử có thể được kích thích bằng cách cấy một miếng agar khoảng 1cm² từ môi trường PSM hoặc PCA vào một đĩa Petri đã đổ nước vô trùng và để dưới ánh sáng trong 2 ngày.

Nên tham khảo nhiều cuốn sách hay đã được xuất bản để có thêm thông tin sâu rộng hơn. Tham khảo sách *Phytophthora Diseases Worldwide* của Erwin và Ribeiro (1996) để tìm thông tin mô tả chi tiết các bọc bào tử của các loài *Phytophthora* nhằm giúp cho việc giám định. Để trợ giúp cho việc giám định *Phytophthora*, nên tham khảo thêm cuốn *Practical Guide to Detection and Identification of Phytophthora* của Drenth và Sendall (2001)

Phần lớn các loài *Phytophthora* gây bệnh phổ biến ở Việt Nam là dị tản, như P. *capsici, P. palmivora, P. nicotianae, P. infestans, P. cinnamomi* và *P. colocasiae*. Lưu ý *P. heveae* là loài đồng tản, và việc sinh sản hữu tính ở *P. citrophthora* là hiếm.

Trong loài dị tản, để sinh sản hữu tính được cần lai các cá thể có dạng giới tính khác nhau. Việc này có thể không thực hiện được ở các phòng thí nghiệm chẩn đoán bệnh cây cấp tỉnh.

Cách thức hình thành và hình thái của các bọc bào tử *Phytophthora* là tiêu chí thực tiễn cho việc giám định những loài quan trọng nhất ở Việt Nam nếu có các tài liệu tham khảo đáng tin cậy như Erwin và Ribeiro (1996).

Du động bào tử của *Pythium* thường được hình thành trong bọc giả ở cuối ống tháo. Ngược lại, các du động bào tử của *Phytophthora* thường được hình thành trực tiếp trong bọc bào tử. Đây là một đặc điểm tin cậy để phân biệt giữa hai chi này.

10.4.4 Chu kỳ bệnh của nấm Oomycete - *Phytophthora* và *Pythium*

Hình 10.8 là sơ đồ minh họa chu kỳ bệnh của nấm oomycete (nấm trứng) và Hình 10.9 cho thấy các đặc tính của *Pythium* và bọc bào tử của *Phytophthora* sp.

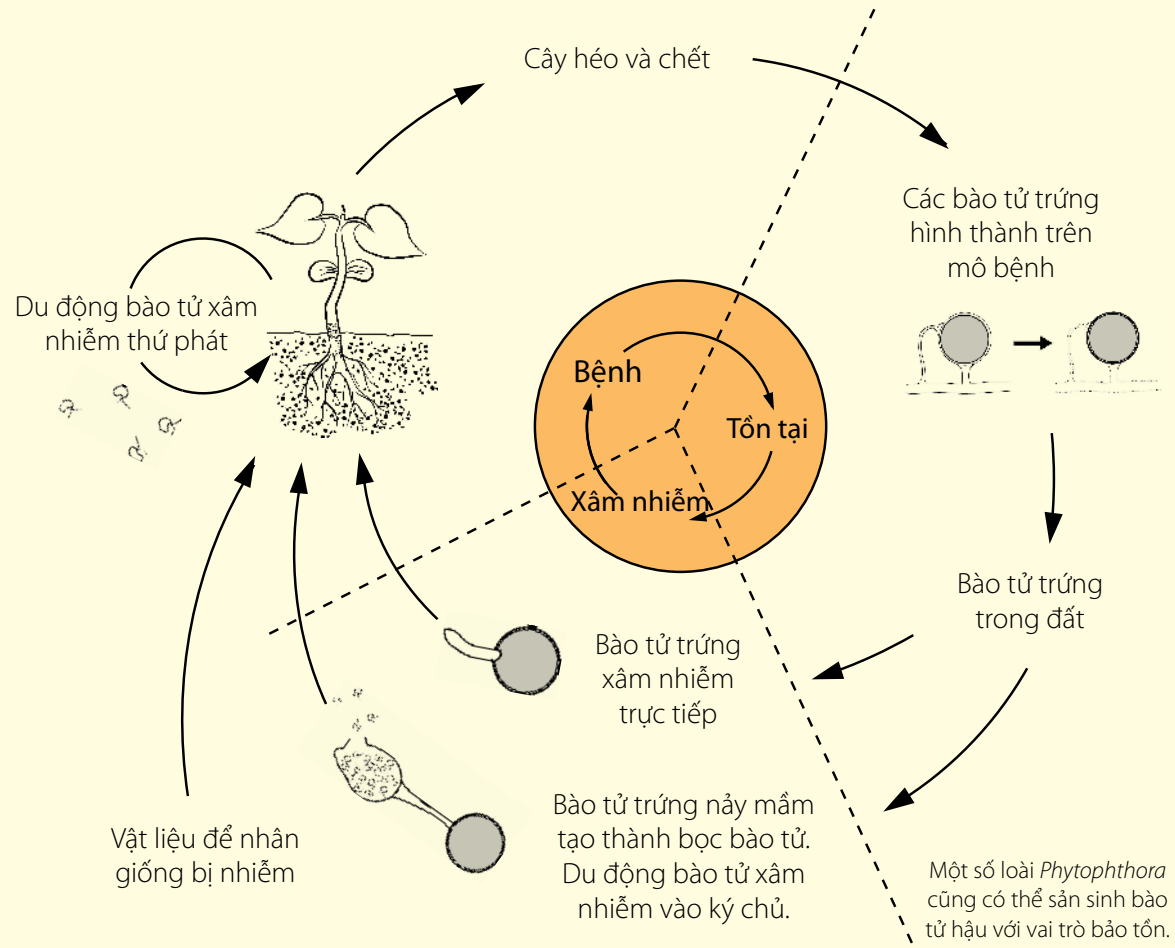
10.4.5 Các loài *Pythium*

Pythium thuộc lớp Oomycete (nấm trứng). Chúng không phải là nấm thực bởi vì lớp này thuộc giới Chromista.

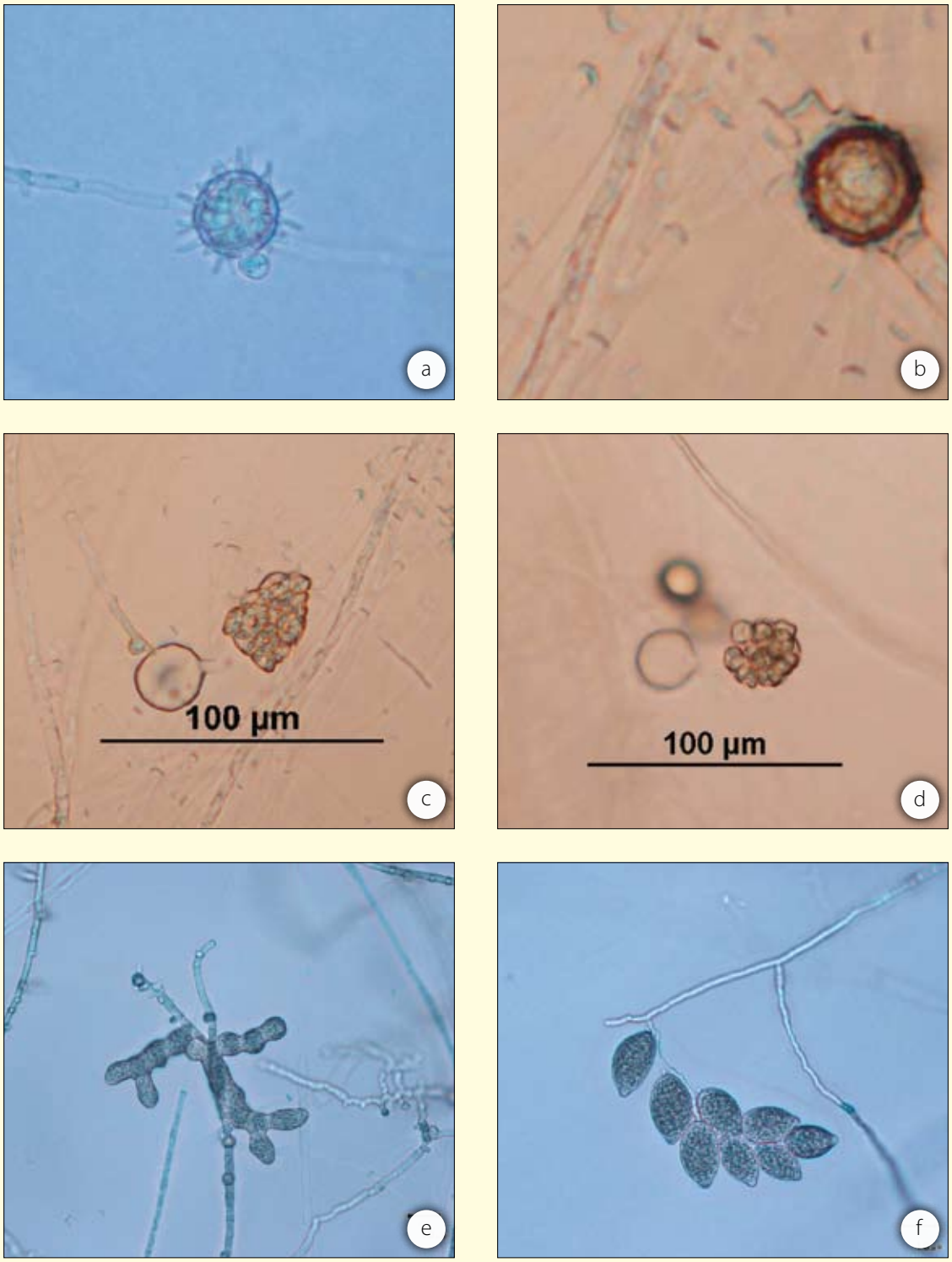
Pythium (và *Phytophthora*) sản sinh ra các bào tử di chuyển được, hay còn gọi là du động bào tử, có vai trò rất quan trọng. Đây cũng là đặc điểm để phân biệt những nấm này với nấm thực trong giới Nấm (Mycota). Du động bào tử vô tính tạo điều kiện cho những nấm này lan truyền trong đất ướt và nước tưới. Hình 10.10 cho thấy bệnh ở cây lạc do *Pythium* gây ra.

Pythium có thể gây chết cây con, nhưng hiếm khi gây chết cây trưởng thành. Tuy nhiên, chúng có thể gây thối rễ con trầm trọng và cản trở quá trình hấp thu chất dinh dưỡng, khiến cây còi cọc, hơi vàng và giảm năng suất.

Bảng 10.5 cung cấp thông tin về *Pythium*, là nấm trứng gây bệnh trên nhiều cây trồng khác nhau.



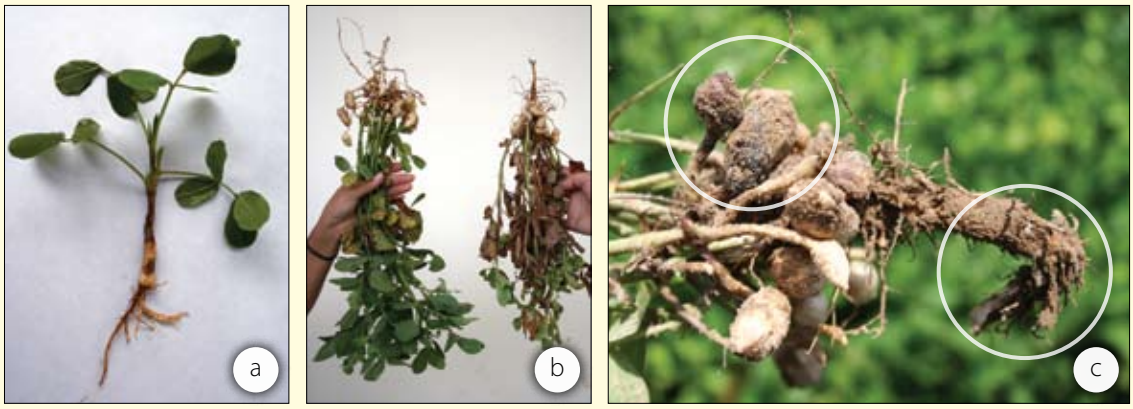
Hình 10.8 Chu kỳ bệnh đã được đơn giản hoá của tác nhân gây bệnh thuộc lớp nấm trứng



Hình 10.9 (a) Thể trứng của *Pythium spinosum* với thùy thể đực bám vào, (b) bào tử trứng trưởng thành của *P. mamillatum*, (c) bọc bào tử *P. mamillatum* với ống tháo và bọc giả chứa các du động bào tử đang phát triển, (d) bọc bào tử của *P. irregulare* với các du động bào tử trưởng thành trong bọc giả có vách mỏng trước khi được giải phóng ra ngoài, (e) Các bọc bào tử hình ngón ở *P. myriotilum*, (f) cành mang bọc bào tử và bọc bào tử đặc trưng của *Phytophthora* sp.

Bảng 10.5 Đặc tính của các loài *Pythium*

Bệnh	*Pythium* gây bệnh tàn lụi và chết rạp cây con (bệnh do ẩm ướt), và gây thối rễ con ở cây trưởng thành. Chúng cũng gây thối củ khoai tây, cà rốt và các nông sản bảo quản khác. Thối rễ và quả do *Pythium* là một bệnh chủ yếu ở lạc.
Các triệu chứng chính	Các triệu chứng bệnh điển hình ở cây con là héo và chết do thối nâu rễ con và thối thân. *Pythium* cũng có thể gây hại rễ con nuôi cây, gây hiện tượng còi cọc, và vàng lá ở các cây trưởng thành. Khi cây bị bệnh trưởng thành, *Pythium* có thể phát triển và gây thối rễ chính hay rễ cái. *Pythium* cũng có thể gây thối quả ở lạc.
Các dấu hiệu chẩn đoán	Không có các dấu hiệu chẩn đoán đặc trưng cho *Pythium*. Cần phân lập và giám định mẫu nấm nuôi cấy nhằm xác định chính xác tác nhân gây bệnh.
Phổ ký chủ	Hầu hết các loài *Pythium* có phổ ký chủ rộng.
Thời tiết	Đất ướt tạo điều kiện thuận lợi cho các du động bào tử *Pythium* xâm nhiễm và lan truyền qua đất. Các điều kiện đất và môi trường ngăn cản sự phát triển của rễ sẽ làm tăng nguy cơ tàn lụi cây con và thối rễ con nuôi cây.
Bảo tồn	Các loài *Pythium* tồn tại dưới dạng bào tử trứng được tạo thành qua quá trình sinh sản hữu tính. Trong các điều kiện thuận lợi, những bào tử vách dày này nảy mầm và bắt đầu quá trình xâm nhiễm vào rễ con.
Xâm nhiễm	Trong đất ướt, du động bào tử được thu hút tới đầu rễ con, ở đó chúng tạo ra các ống mầm (sợi nấm còn non) xâm nhập qua đầu rễ con và khởi đầu quá trình làm thối rễ.
Phòng trừ	Có thể xử lý hạt bằng thuốc trừ nấm, và xử lý rễ cây con bằng cách nhúng rễ vào dung dịch thuốc trừ nấm trước khi trồng. Luân canh là một biện pháp quan trọng nhằm giảm tỷ lệ bệnh thối rễ do *Pythium*. Cần lưu ý sử dụng các cây giống sạch bệnh.
Phân lập	Các loài *Pythium* có thể được phân lập từ các rễ con bị bệnh: 1. Nhúng nhanh rễ trong cồn êtyl 70% và rửa lại trong nước vô trùng. 2. Để ráo trên giấy thấm vô trùng. 3. Cấy lên môi trường thạch nước cất. Thạch nước cất thường được dùng cho việc phân lập, bởi vì *Pythium* mọc rất nhanh trên mặt thạch—hầu hết các loài *Pythium* phát triển rất nhanh. Sợi nấm trắng mịn và dầy hình thành trên môi trường PDA. Nhiều loài có thể mọc phủ kín một đĩa PDA lớn trong vòng ít hơn 48 giờ. Làm thuần các mẫu *Pythium* bằng cách cấy đỉnh sinh trưởng sợi nấm. *Pythium* thường sản sinh rất nhiều bọc bào tử động và bào tử trứng trong môi trường nước lá lúa.



Hình 10.10 Các bệnh do *Pythium* trên lạc: (a) thối rễ con và thối thân cây con do *Pythium* trong điều kiện rất ẩm ướt, (b) so sánh hai cây trưởng thành, cây khỏe (trái), cây còi cọc do thối rễ nặng (phải), (c) thối rễ cái và quả lạc trầm trọng do *Pythium*.

10.4.6 Các loài *Phytophthora*

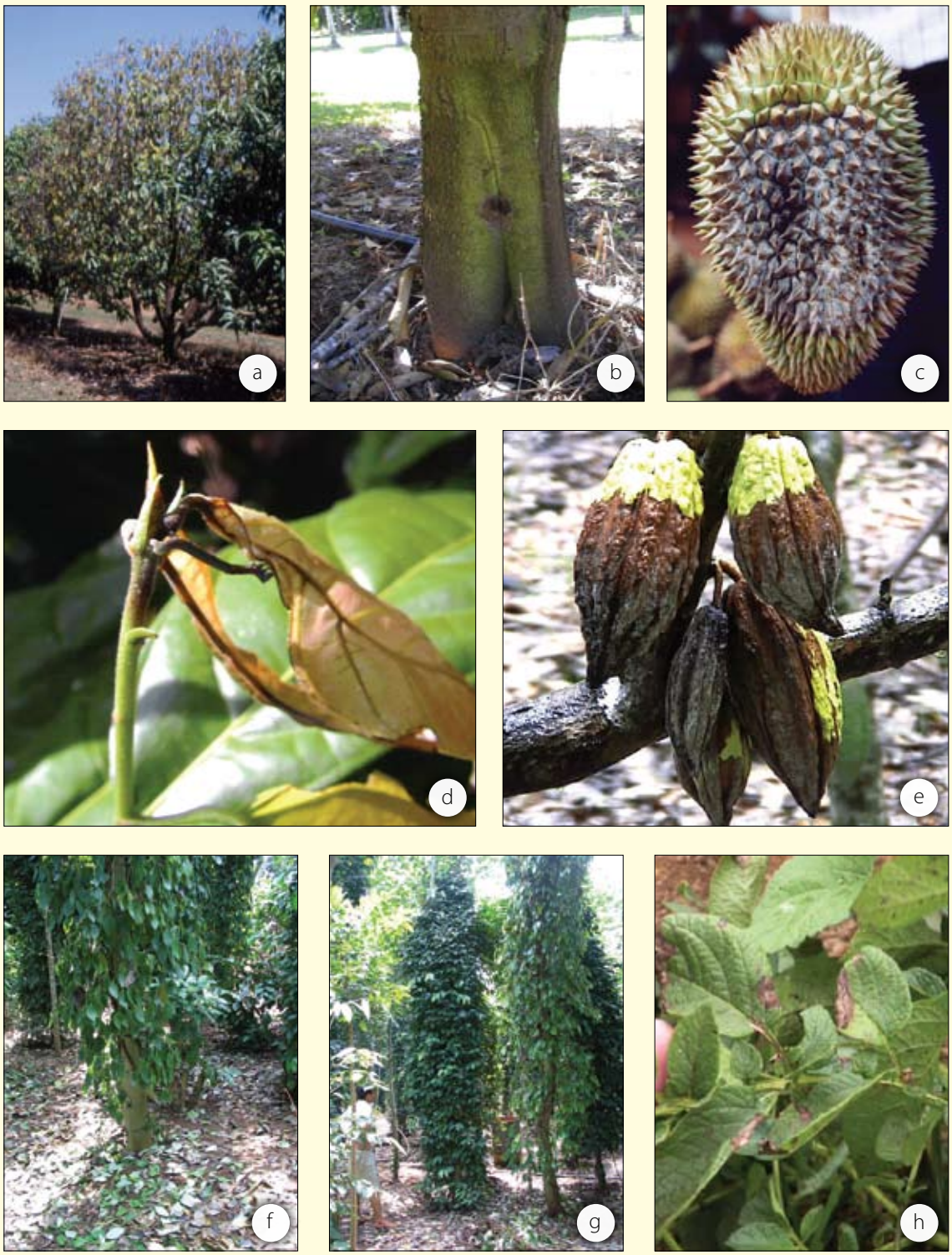
Giống như *Pythium*, *Phytophthora* thuộc lớp nấm trứng, không phải nấm thực và sản sinh ra du động bào tử. Vì vậy, phòng trừ *Phytophthora* và *Pythium* khác với phòng trừ các bệnh do nấm thực gây ra và các thuốc trừ nấm dùng trong phòng trừ cũng khác nhau.

Các bệnh do *Phytophthora* gây hại cho cây lâu năm, rau và các cây trồng khác làm tổn thất đáng kể về kinh tế cho vùng Đông Nam Á. Việc phân lập và giám định các loài *Phytophthora* cũng như phương pháp quản lý bệnh hại tổng hợp được đề cập chi tiết trong các tài liệu liệt kê ở phần tủ sách. Bảng 10.6 cung cấp thông tin về *Phytophthora*, một loại nấm trứng gây ra một loạt các bệnh trên nhiều cây trồng khác nhau ở Việt Nam. Một số bệnh này được đề cập ở Hình 10.11.

Bảng 10.6 Đặc tính của các loài *Phytophthora*

Bệnh	*Phytophthora* là nguyên nhân gây rất nhiều bệnh trên cây ăn quả, rau màu và cây công nghiệp ở Việt Nam. Các bệnh bao gồm thối rễ; thối thân và quả sầu riêng; thối rễ ớt; thối nõn dứa; thối gốc (héo nhanh) hồ tiêu; mốc sương cà chua, khoai tây; thối rễ, thân và quả đu đủ; tàn lụi cao su và các cây trồng khác.
Các triệu chứng chính	Cây bị bệnh chết dần từ ngọn cây và có thể có triệu chứng thối rễ và nứt ở phần thân gần mặt đất. Các cây rau bị thối rễ, như ớt, trở nên còi cọc và héo. Cây thường chết nhanh sau khi các triệu chứng héo trầm trọng xảy ra.

Các dấu hiệu chẩn đoán	Việc chẩn đoán đòi hỏi quá trình phân lập và giám định tác nhân gây bệnh. Triệu chứng héo cũng có thể do các tác nhân khác làm thối rễ và thân.
Xâm nhiễm	Cách thức xâm nhiễm tùy thuộc từng loài. Tuy nhiên, bào tử trứng, bọc bào tử động và du động bào tử tạo điều kiện cho việc xâm nhiễm vào các bộ phận khác nhau của cây. Mưa tạt phân tán bào tử lên bộ lá của cây vì vậy quá trình xâm nhiễm có thể bắt đầu từ thân, lá và quả, tùy thuộc loài *Phytophthora* và ký chủ. Côn trùng bò hoặc bay cũng có thể mang nấm từ đất tới các bộ phận phía trên của cây.
Phổ ký chủ	Phổ ký chủ của *Phytophthora* tùy thuộc vào từng loài cụ thể. Một số loài như *P. palmivora* có phổ ký chủ rộng, trong khi các loài khác như *P. infestans* có phổ ký chủ hẹp.
Bảo tồn	Các tác nhân gây bệnh bảo tồn dưới dạng bào tử trứng và/hoặc bào tử hậu trong đất, và có thể được di chuyển theo vật liệu nhân giống, đất hoặc nông cụ có chứa nấm bệnh.
Khí hậu	Các bệnh do *Phytophthora* thích hợp với điều kiện ẩm ướt. Lượng mưa cao tại các vùng nhiệt đới thúc đẩy quá trình lan truyền của du động bào tử và các mầm bệnh khác theo nước mưa tạt. Du động bào tử cũng di chuyển theo nước trong các lạch và kênh tưới tiêu. Nhiều loài *Phytophthora* ưa điều kiện nóng ẩm trong khi đó một số loài như *P. infestans* (mốc sương), lại ưa điều kiện ẩm ướt và mát.
Phòng trừ	Để phòng trừ thành công các bệnh do *Phytophthora* thường phải có sự kết hợp các biện pháp phòng trừ khác nhau: • thoát nước tốt • dùng giống sạch bệnh • ngăn chặn *Phytophthora* vào những vùng không nhiễm bệnh • dùng phân gà để ức chế hoạt động của tác nhân gây bệnh trong đất • tiêm phosphonate vào cây • nhúng rễ cây con vào thuốc trước khi trồng để giảm số cây con chết.
Phân lập	*Phytophthora* có thể được phân lập trực tiếp từ các phần lá cây bệnh, như lá dứa, dùng môi trường phân lập chọn lọc. Về phương pháp, tham khảo quy trình phân lập từ mẫu bệnh thối nõn dứa được mô tả bằng hình ảnh trong phần nghiên cứu cụ thể bệnh thối nõn dứa (Phần 3.1). Phân lập từ rễ cây bệnh có thể khó hơn nhiều do có nhiều nấm và vi khuẩn hoại sinh mọc trong các mô rễ bệnh. Tham khảo quy trình phân lập tác nhân gây bệnh rễ ở Phần 6.3.2. Nên dùng bẫy để phân lập *Phytophthora* từ rễ nhỏ và đất. Tham khảo chi tiết về phương pháp này ở phần bẫy tác nhân gây bệnh từ rễ và đất (Phần 6.3.4).



Hình 10.11 Bệnh do *Phytophthora palmivora* ở sầu riêng: (a) cây vàng lá, (b) thối mục thân, (c) thối quả. Bệnh do *P. palmivora* ở cacao: (d) tàn lụi cây con, (e) quả bị đen. Thối rễ (héo nhanh) hồ tiêu do *P. capsici*: (f) rụng lá, (g) héo. Bệnh do *P. infestans*: (h) mốc sương khoai tây. Các hình ảnh (a) đến (e) do David Guest cung cấp, (f) đến (g) do N. V. Truong cung cấp.

10.5 *Fusarium*

10.5.1 Giới thiệu

Chi *Fusarium* bao gồm nhiều loài gây bệnh cho cây như héo do tắc bó mạch, thối rễ, thân và bắp, thối cổ rễ cây con và thối củ. Một số loài gây bệnh cũng sản sinh độc tố nấm lẫn tạp trong hạt ngũ cốc (xem các loài *Fusarium* có độc tố, Phần 12.3).

Nhiều loài *Fusarium* khác là hoại sinh phổ biến trong đất. Các loài hoại sinh thường có mặt trên rễ và thân cây bệnh. Những loài hoại sinh này mọc nhanh trên môi trường và được phân lập dễ dàng từ rễ và thân bị bệnh, khiến cho việc phân lập các tác nhân gây bệnh chính trở nên khó khăn. Vì vậy việc lây bệnh nhân tạo các mẫu *Fusarium* phân lập từ rễ bệnh là rất cần thiết. Đây là phần quan trọng trong quá trình chẩn đoán, và là một trong những lý do tại sao chẩn đoán một bệnh rễ lại khó khăn. Ví dụ, *Fusarium oxysporum* bao gồm nhiều dạng loài gây các bệnh héo do tắc bó mạch và một số bệnh thối rễ. Tuy nhiên, *F. oxysprorum* cũng bao gồm nhiều dạng hoại sinh có mặt phổ biến trên rễ cây bệnh sau khi tác nhân gây bệnh đã làm thối mô rễ. Một số loài hoại sinh này cũng có thể sống nội sinh trong các tế bào lớp ngoài của rễ mà không làm tổn thương rễ.

Các loài *Fusarium* hoại sinh ở rễ mọc nhanh trên môi trường PDA và thường được chẩn đoán nhầm là tác nhân gây bệnh.

Không sử dụng PDA để phân lập nấm gây bệnh từ rễ.

10.5.2 Nấm *Fusarium* gây bệnh ở Việt Nam

Các bệnh héo *Fusarium* là vấn đề quan trọng ở Việt Nam và những bệnh này được đề cập đến một cách chi tiết sau trong phần này. Những bệnh héo này do các dạng loài của *F. oxysporum* gây ra. Một vài dạng *F. oxysporum* cũng có thể gây thối dưa hấu và củ khoai tây đã bị sâu hoặc dụng cụ gặt hái làm tổn thương.

Thối bắp ngô, chủ yếu do *F. graminearum* và *F. verticillioides* gây ra, ngày càng trở nên nghiêm trọng ở Việt Nam. Cả hai loài đều sản sinh độc tố nấm tồn tại trong hạt (tham khảo độc tố nấm *Fusarium* trong Phần 12).

Một số dạng *Fusarium solani* gây thối cổ rễ cây con họ đậu như đậu Hà Lan, đậu cô ve, và thối rễ ở các cây trưởng thành. Các dạng khác có thể gây hại ở khu vực gốc thân cây lớn, như cây vải, bị yếu đi do yếu tố môi trường làm stress và do các bệnh khác.

Fusarium decemcellulare đã được phân lập từ cành nhãn bị thối ở miền bắc Việt Nam (L. Burgess, thông tin chưa xuất bản) và từ cà phê ở Tỉnh Đắc Lắc (TS. Trần Kim Loang, giao tiếp riêng).

Danh mục này chưa phải là đầy đủ và còn nhiều loài khác có thể có mặt ở Việt Nam. Hình 10.12 minh họa một số bệnh do *Fusarium* gây ra.

Bảng 10.7 Danh mục một số dạng loài *Fusarium oxysporum* gây héo.

Hình 10.12 Bệnh do các loài *Fusarium* gây ra: (a) *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* gây héo đậu Hà Lan, (b) khối bào tử phân sinh *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* trên củ gừng, (c) thân cây bị hóa nâu do *F. oxysporum*, (d) quả thể của *F. graminearum* trên thân ngô.
Các ảnh (a) và (c) do Ameera Yousiph cung cấp.

Bảng 10.7 *Fusarium oxysporum* (héo do tắc bó mạch)

Bệnh	Các bệnh héo Fusarium do các dạng loài của *F. oxysporum* gây ra. Mỗi dạng loài thường chỉ có thể gây héo trên một loài ký chủ. Trên thế giới có tới hơn 100 bệnh héo Fusarium. Ở Việt Nam, bệnh héo Fusarium trên chuối là một trong những bệnh héo quan trọng và được biết đến nhiều. Một số dạng loài Fusarium gây héo và các bệnh do chúng gây ra ở Việt Nam:	
	F. oxysporum f. sp. *cubense*	Héo Fusarium trên chuối (bệnh Panama)
	F. oxysporum f. sp. *lycopersici*	Héo Fusarium trên cà chua
	F. oxysporum f. sp. *pisi*	Héo Fusarium trên đậu Hà Lan
	F. oxysporum f. sp. *niveum*	Héo Fusarium trên dưa hấu
	F. oxysporum f. sp. *callistephi*	Héo Fusarium trên cúc tây
	F. oxysporum f. sp. *zingiberi*	Héo Fusarium trên gừng
	F. oxysporum f. sp. *dianthi*	Héo Fusarium trên cẩm chướng
	Cần điều tra các bệnh héo Fusarium ở Việt Nam bởi vì theo các tác giả, có nhiều bệnh héo Fusarium ngoại lai quan trọng chưa được công bố (như héo Fusarium trên cải bắp). Cách tốt nhất để hạn chế những bệnh này là đưa ra các quy định chặt chẽ về kiểm dịch thực vật.	
Triệu chứng	Các triệu chứng sớm bao gồm vàng lá, hơi héo trong ngày và còi cọc. Khi trời nóng, những cây bệnh như cà chua và đậu Hà Lan sẽ chết trong vòng vài ngày. Chuối bị bệnh thường chết chậm hơn, trong vòng 1-2 tháng.	

Vàng lá, héo và còi cọc là các triệu chứng chung của nhiều bệnh trên rễ và thân.

Hóa nâu mạch dẫn bên trong thân cây là triệu chứng điển hình của các bệnh héo do tắc bó mạch, bao gồm cả các bệnh héo Fusarium.

Hình 10.13 cho thấy một số bệnh héo Fusarium xuất hiện ở Việt Nam.

Bảng 10.8 cung cấp thông tin về các dạng loài của *Fusarium oxysporum*, nấm gây héo do tắc bó mạch trên cây trồng.

Hình 10.13 Héo Fusarium trên chuối do *F. oxysporum* f. sp. *cubense*: (a) các triệu chứng héo trầm trọng, (b) triệu chứng nứt thân, (c) hóa nâu mạch dẫn. Héo Fusarium trên cẩm chướng do *F. oxysporum* f. sp. *callistephi*: (d) héo trầm trọng gây chết cây, (e) thân cây héo với nhiều khối bào tử phân sinh màu trắng trên bề mặt. Héo Fusarium ở đậu Hà Lan do *F. oxysporum* f. sp. *pisi:* (f) các triệu chứng héo trên đồng ruộng (chú ý các đám cây chết), (g) hóa nâu mạch dẫn ở cành bị héo. Ảnh (f) do Ameera Yousiph cung cấp.

Bảng 10.8 Đặc điểm của bệnh héo Fusarium

Các dấu hiệu chẩn đoán	**Chuối** Ban đầu, mép lá của cây bị nhiễm có triệu chứng hóa vàng, sau đó lá rũ xuống và héo. Ở giai đoạn phát triển bệnh tiếp theo, triệu chứng nứt thân thể hiện rất rõ và cây chết. Thân bị hóa nâu là triệu chứng điển hình của bệnh. Lưu ý là sâu đục thân chuối cũng có thể gây ra các triệu chứng vàng lá và héo tương tự. **Cà chua** Những triệu chứng đầu tiên thường là vàng lá sau đó là héo và cây chết trong vài ngày. Hiện tượng hóa nâu ở phần ngoài của thân (triệu chứng hóa nâu mạch dẫn) thường thể hiện rõ rệt. **Bầu bí** Cây bệnh có thể héo và chết rất nhanh khi thời tiết nóng, đặc biệt là vào cuối vụ khi cây có nhiều quả. Hiện tượng vàng lá xảy ra ở một số giống dưới các điều kiện mát hơn và ít stress hơn. Hóa nâu rễ và thân có thể không biểu hiện rõ cho đến khi héo trầm trọng xảy ra.
Phổ ký chủ	Mỗi dạng loài thường chỉ gây héo do tắc bó mạch trên một loài ký chủ nhất định. Chẳng hạn như *F. oxysporum* f. sp. *niveum* chỉ gây héo trên dưa hấu.
Thời tiết	Các bệnh héo Fusarium thường nghiêm trọng hơn trong điều kiện thời tiết ấm và ẩm ướt.
Bảo tồn	Các tác nhân gây bệnh héo Fusarium tồn tại dưới dạng bào tử hậu trong đất qua thời gian dài. Bào tử hậu có hình tròn, là các bào tử một tế bào với vách tế bào dày và có sức chống chịu cao, được hình thành trong mô bệnh. Các tác nhân gây bệnh héo Fusarium cũng có thể có mặt ở vỏ rễ một số cây không phải là ký chủ, kể cả cỏ dại và cây trồng. Bào tử hậu hình thành trong vỏ rễ khi cây chết. Như vậy những cây trồng không phải là ký chủ phải được kiểm tra trước khi được khuyến cáo là cây trồng luân canh để phòng trừ héo Fusarium.
Xâm nhiễm	Sợi nấm và bào tử vô tính nảy mầm trong tàn dư cây bệnh và đất xâm nhiễm vào rễ con còn non và lan dần vào các mạch xylem. Nấm bệnh sau đó sẽ phát triển trong mạch xylem và lan lên hệ thống mạch dẫn trong thân. Quá trình này gây phản ứng của cây, tạo ra các hợp chất phenol và thể sần có màu nâu. Những hợp chất này gây hiện tượng hóa nâu của mạch dẫn, một dấu hiệu dễ nhận thấy của bệnh héo khi cắt ngang thân. Hiện tượng tắc mạch xylem làm giảm lượng nước di chuyển lên cây, khiến cho cây bệnh bị héo rồi chết. Bệnh héo Fusarium thường liên hệ với tuyến trùng nốt sưng. Nấm *Fusarium* xâm nhiễm vào cây qua vết thương do tuyến trùng gây ra.

Phòng trừ	Các bệnh héo Fusarium rất khó phòng trừ do bào tử hậu tồn tại qua thời gian dài trong đất, Luân canh các cây trồng có khả năng kháng bệnh ít nhất 2 năm trước khi trồng lại các cây trồng mẫn cảm có thể giúp làm giảm nguồn bệnh. Tuy nhiên, loại nấm này vẫn có thể tồn tại bằng cách xâm nhiễm vào vỏ rễ các cây trồng không phải là ký chủ và không biểu hiện triệu chứng. Việc này nêu rõ sự cần thiết nghiên cứu đặc tính sinh học của loại nấm này ở từng quốc gia nhằm xác định vai trò của những cây trồng không phải là ký chủ và thời gian tồn tại của bào tử hậu trong đất. Có những giống cây trồng có khả năng kháng bệnh héo Fusarium. Tuy nhiên một giống kháng bệnh không có nghĩa là có khả năng kháng với tất cả các chủng của một dạng loài nào đó. Một số bệnh héo Fusarium đã được phòng trừ thành công bằng phương pháp sử dụng gốc ghép có khả năng kháng bệnh. Ví dụ, phương pháp này đã được áp dụng để phòng trừ bệnh héo Fusarium trên dưa hấu. Không có thuốc trừ nấm hữu hiệu để phòng trừ.
Phân lập	Có thể phân lập nấm bệnh *Fusarium* một cách dễ dàng từ mô thân bị bệnh (Phần 6.3.1), dùng môi trường chọn lọc cho *Fusarium* (PPA) hoặc WA. Cần sử dụng các mẫu thân mới nhiễm bệnh để phân lập.

10.5.3 Phân lập nấm *Fusarium* gây héo

Kỹ thuật sau dùng để phân lập các loài *Fusarium* từ cây trồng:

1. Chọn một mẩu thân dài 4cm, cách mặt đất ít nhất 20cm.
2. Rửa thân trong nước máy và khử trùng bề mặt bằng cồn êtyl 70% trong 1 phút.
3. Để khô trên giấy thấm đã khử trùng hoặc hơ khô trên ngọn lửa đèn cồn nếu thân dày.
4. Dùng dụng cụ vô trùng cắt ngang thân thành những miếng cấy dày khoảng 1-2mm.
5. Cấy các miếng cấy này lên môi trường phân lập (WA hoặc PPA). Một tản nấm sẽ được phát triển từ mỗi miếng cấy sau 2-3 ngày.
6. Cấy truyền lên môi trường thạch lá cẩm chướng hoặc môi trường thạch thân lúa và để mẫu cấy dưới ánh sáng.
7. Làm thuần bằng kỹ thuật cấy đơn bào tử (Phần 6.5.2) và nuôi nấm thuần trên môi trường CLA hoặc môi trường thạch thân lúa và môi trường PDA dưới ánh sáng.
8. Không dùng Parafilm® hoặc băng dính bọc kín đĩa cấy vì điều này sẽ hạn chế sự phát triển, sản sinh bào tử và hình thành quả thể hữu tính của một số loài *Fusarium*.

Giám định tác nhân gây bệnh trên CLA hoặc môi trường thạch thân lúa qua các đặc tính chính như sau:

- bào tử nhỏ hình bầu dục hình thành trong những bọc giả gắn trên tế bào sinh bào tử ngắn
- bào tử lớn hình quả chuối có chiều dài trung bình với các tế bào cuối hình bàn chân trong khối bào tử trên các mẩu lá
- bào tử hậu (tạo thành sau 2-3 tuần)

Không sử dụng bào tử hình thành trên môi trường PDA để giám định *Fusarium* đến loài.

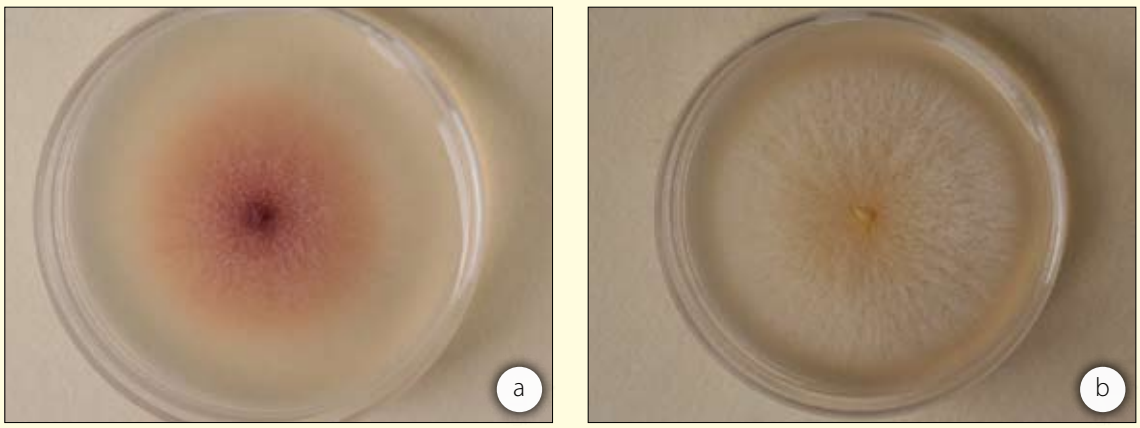
Trên PDA *F. oxysporum* sản sinh ra:

- một loạt các sắc tố do các tản nấm phát triển trên môi trường thạch, từ không màu đến tía đến tím
- sợi nấm có màu trắng đến tía.

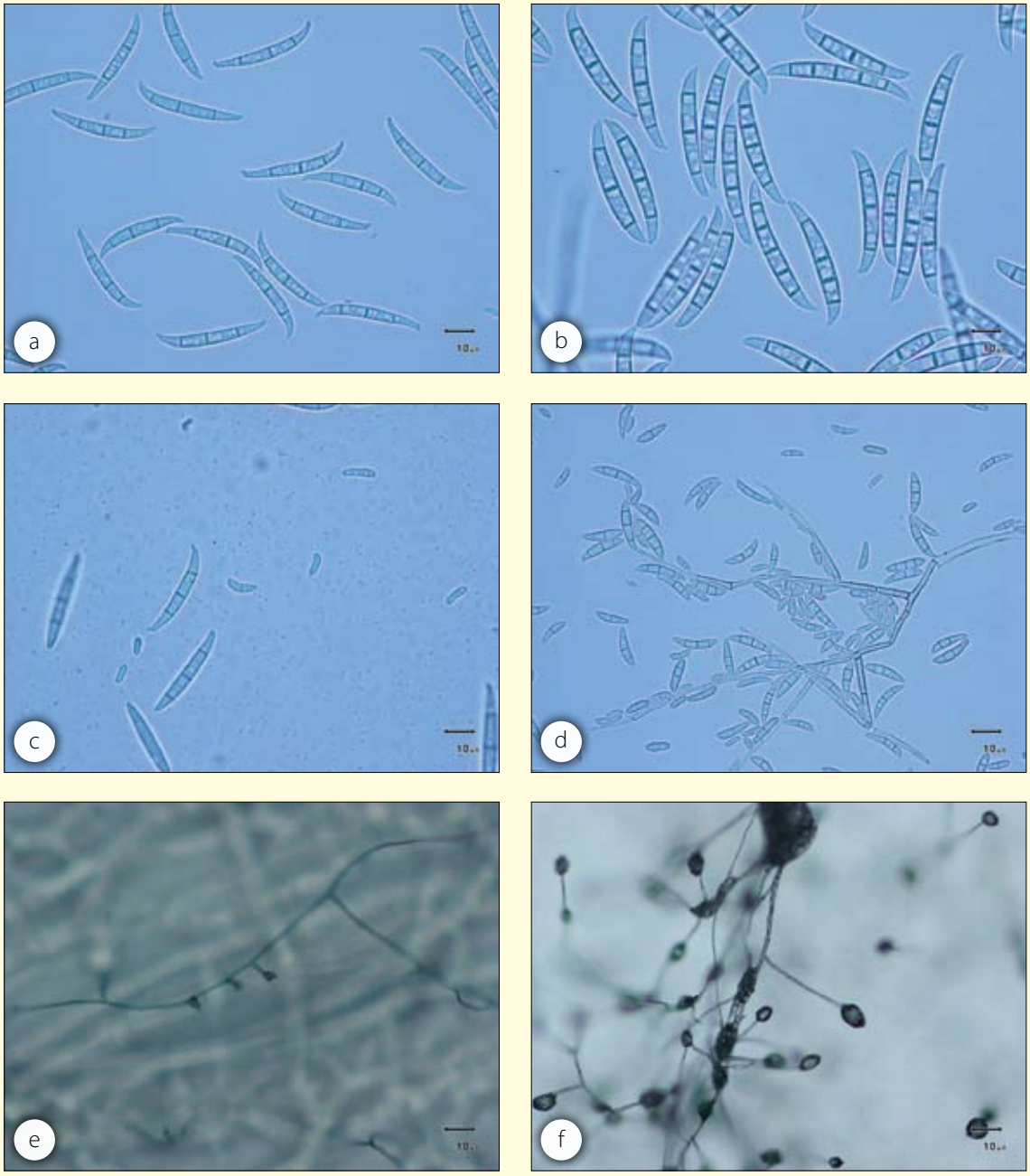
10.5.4 *Fusarium oxysporum* và *Fusarium solani*—các đặc điểm hình thái chính giúp cho việc giám định

Những người nghiên cứu không có kinh nghiệm về *Fusarium* khó có thể phân biệt nấm *F. oxysporum* và *F. solani* (Bảng 10.9 và Hình 10.14-10.16). *F. oxysporum* chủ yếu gây bệnh héo do tắc bó mạch, trong khi *F. solani* chủ yếu gây thối rễ và cổ rễ.

Điều quan trọng nên lưu ý là một số *F. oxysporum* và *F. solani* hoại sinh (không phải tác nhân gây bệnh) lại thường được phân lập từ rễ khỏe và rễ bệnh. Vì vậy, cần tiến hành lây bệnh nhân tạo trước khi đi đến kết luận về vai trò gây bệnh của chúng.



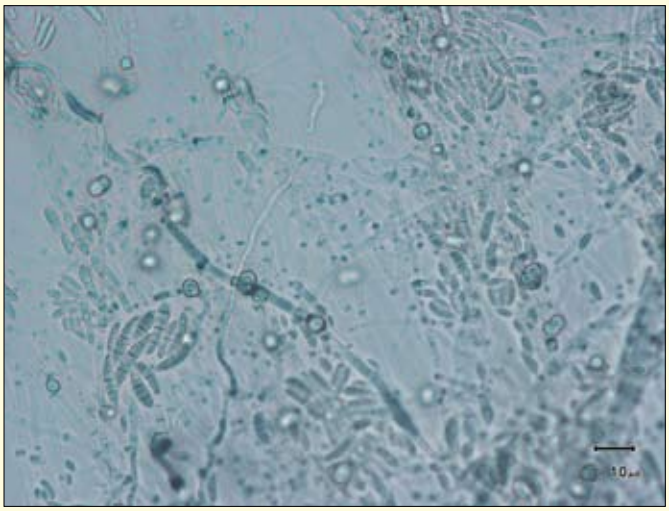
Hình 10.14 Mẫu cấy *Fusarium oxysporum* (trái) và *F. solani* (phải) nuôi cấy được bốn ngày, trong đĩa Petri 60mm trên môi trường thạch đường khoai tây



Hình 10.15 Phân biệt giữa *Fusarium oxysporum* (trái) và *F. solani* (phải): (a) và (b) bào tử lớn, (c) và (d) bào tử nhỏ và một số bào tử lớn, (e) và (f) bào tử nhỏ trong bọc giả trên tế bào sinh bào tử (lưu ý *F. oxysporum* có tế bào sinh bào tử ngắn và *F. solani* có tế bào sinh bào tử dài)

Bảng 10.9 Các đặc điểm để phân biệt *Fusarium oxysporum* và *Fusarium solani*

	F. oxysporum	*F. solani*
Trên PDA	Các tản nấm tạo sắc tố tím đến tía trên môi trường thạch và sợi nấm	Các tản nấm có màu trắng tới màu kem, một số có sắc tố hơi xanh lá cây tới xanh lam
Trên CLA (hoặc thạch thân lúa xanh)	Bào tử lớn trong khối bào tử thon hơn và có chiều dài trung bình	Bào tử lớn trong khối bào tử to ngang so với chiều dài và lớn hơn bào tử lớn của *F. oxysporum*
	Bào tử nhỏ có kích thước nhỏ, thường không có vách ngăn và được hình thành trong bọc giả gắn trên những tế bào sinh bào tử rất ngắn	Bào tử nhỏ có kích thước lớn, thường có 1-3 vách ngăn và được hình thành trong bọc giả gắn trên các tế bào sinh bào tử rất dài hoặc trên các cành bào tử phân sinh phân nhánh

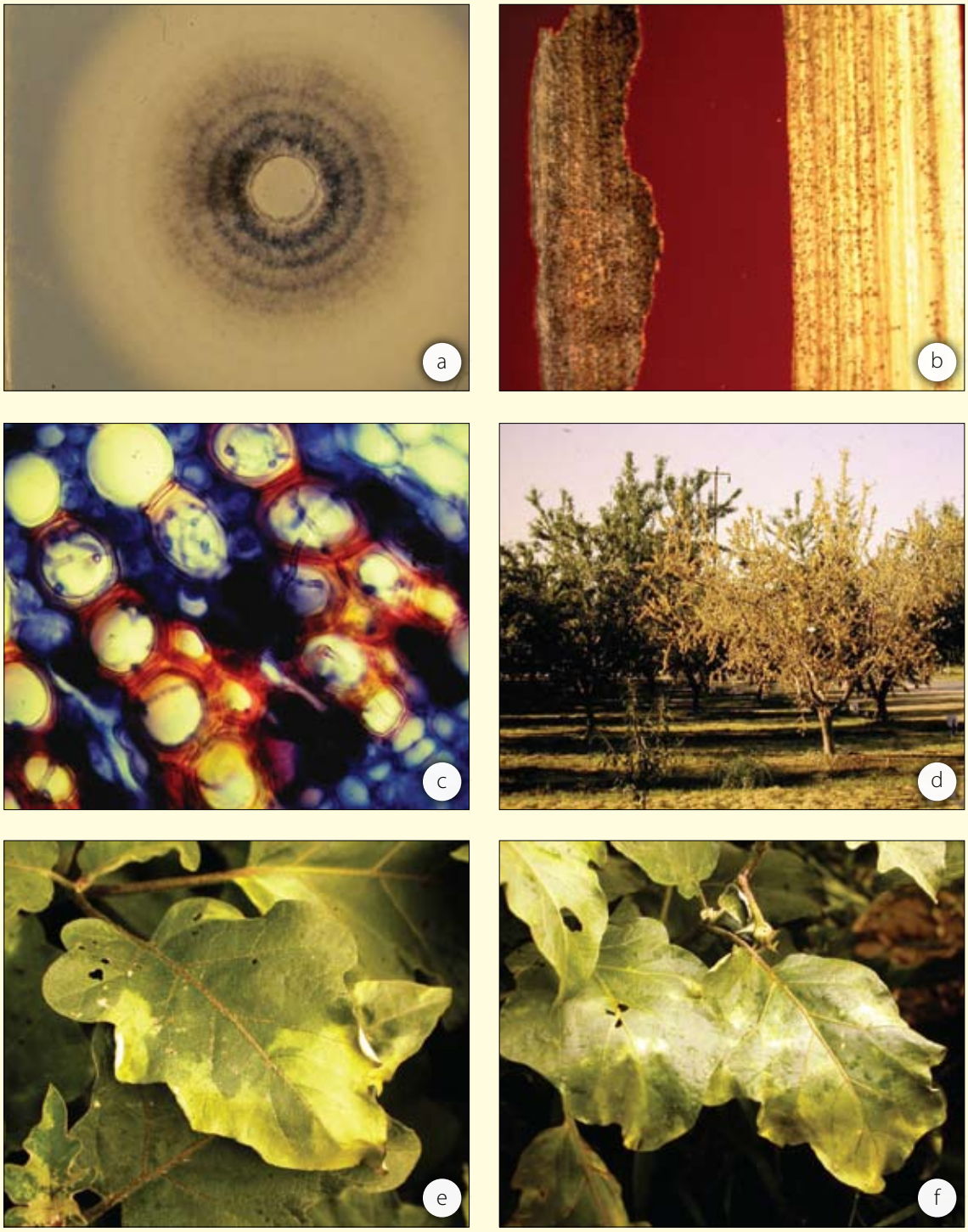


Hình 10.16 Bào tử hậu của *Fusarium solani* hình thành trên môi trường thạch lá cẩm chướng (CLA) (Bào tử hậu *F. oxysporum* trông tương tự)

10.6 *Verticillium albo-atrum* và *V. dahliae*— nấm gây bệnh héo ngoại lai

Nấm gây bệnh héo *Verticillium albo-atrum* và *V. dahliae* chưa được công bố ở Việt Nam và *V. albo-atrum* có trong danh mục đối tượng kiểm dịch ở Việt Nam. Hai loài *Verticullium* này gây ra những triệu chứng tương tự (Hình 10.17).

Bảng 10.10 cung cấp thông tin về *Verticillium albo-atrum* và *V. dahliae*, hiện là những nấm gây bệnh héo ngoại lai đối với Việt Nam.



Hình 10.17 *Verticillium dahliae:* (a) Mẫu nấm trên môi trường thạch đường khoai tây (nấm mọc chậm), (b) hạch nấm nhỏ trên thân cây bông già, (c) sợi nấm trong mạch xylem bị bệnh, (d) cây hồ trăn héo do *V. dahliae*, (e) và (f) lá cà tím héo do *V. dahliae*

Bảng 10.10 Đặc điểm của *Verticillium albo-atrum* và *V. dahliae*

Các triệu chứng chính	Các triệu chứng bao gồm vàng lá, héo và hóa nâu gân lá. Các mô mạch dẫn trong thân thường có màu nâu.
Dấu hiệu chẩn đoán	Héo và hóa nâu mạch dẫn. Để chẩn đoán chính xác cần phân lập và giám định nấm.
Xâm nhiễm	Những nấm này xâm nhiễm qua các rễ con và lan vào mạch xylem. Sau đó chúng mọc lan trong mạch xylem của thân vào cuống lá và lá. Nấm phát triển trong thân làm thân hóa nâu và giảm quá trình hấp thụ nước, gây héo và chết cây.
Phổ ký chủ	Cả hai loài đều có phổ ký chủ rộng, gây héo do tắc bó mạch nhiều cây lá rộng (cây hai lá mầm) bao gồm cà chua, khoai tây, bông, bầu bí, dâu tây và một số cây ăn quả ôn đới như hạnh nhân và hồ đào.
Bảo tồn	*Verticillium albo-atrum* tồn tại dưới dạng sợi nấm trên tàn dư cây ký chủ. *V. dahliae* tồn tại dưới dạng hạch nấm nhỏ trên tàn dư cây ký chủ, trong đất và tồn tại dưới dạng sợi nấm trên tàn dư cây ký chủ.
Thời tiết	Cả hai loài nấm gây bệnh này thường phân bố ở các vùng ôn đới trên thế giới. Ở Việt Nam, các vùng núi tây bắc và vùng Đắc Lắc là những nơi có điều kiện thích hợp cho chúng. Chúng cũng có thể gây hại được ở các vùng miền bắc và miền trung, nơi có nhiệt độ mùa đông thấp.
Phòng trừ	Nếu có cây trồng kháng bệnh thì việc luân canh cây trồng là biện pháp hữu hiệu. Phổ ký chủ rộng của tác nhân gây bệnh hạn chế việc chọn lựa cây trồng luân canh tại các vùng trồng rau. Đối với các cây trồng như dâu tây thì yêu cầu hom giống và cây mẹ sạch bệnh là vô cùng cần thiết. Các ký chủ cỏ dại mẫn cảm với bệnh cần được phòng trừ triệt để.
Phân lập	*V. albo-atrum* và *V. dahliae* phát triển chậm trên môi trường nhân tạo. Việc phân lập chúng có thể khó khăn. Tốt nhất nên phân lập từ mẫu thân hoặc cuống lá khi mới xuất hiện triệu chứng hóa nâu trên thân. 1. Khử trùng bề mặt mẫu thân 1 phút trong cồn êtyl 70%. 2. Để khô trên giấy thấm. 3. Cắt các khoanh mô thân và cấy lên môi trường thạch nước cất hoặc thạch thân lúa xanh (môi trường thạch nước cất có chứa những mẩu thân lúa xanh nhỏ đã được khử trùng). 4. Cấy truyền, làm thuần bằng kỹ thuật cấy đơn bào tử và nuôi nấm trên PDA và thạch thân lúa xanh. *V. dahliae* sẽ tạo các hạch nấm nhỏ trên môi trường, đặc biệt là trên những mẩu thân hoặc mảnh rễ ký chủ sạch. **Những loài này sản sinh ra các cành bào tử phân sinh mọc vòng điển hình từ những mạch xylem của các miếng thân cấy trên môi trường WA hoặc thạch thân lúa xanh.**

10.7 Tuyến trùng ký sinh thực vật

Tuyến trùng ký sinh thực vật thuộc nhóm giun tròn nhỏ không phân đốt. Tuyến trùng ký sinh và không ký sinh thực vật đều có trong đất. Sự có mặt của kim chích hút (Hình 10.18a) là đặc tính chính của tuyến trùng ký sinh thực vật. Có thể quan sát được kim chích dưới kính hiển vi hoặc kính lúp soi nổi với độ phóng đại cao. Lưu ý rằng có một số loài có kim chích nhưng lại sống nhờ thức ăn là sợi nấm trong đất chứ không gây hại cho cây.

Hình 10.18 Tuyến trùng: (a) ký sinh thực vật với kim chích, (b) không ký sinh thực vật, không có kim chích.

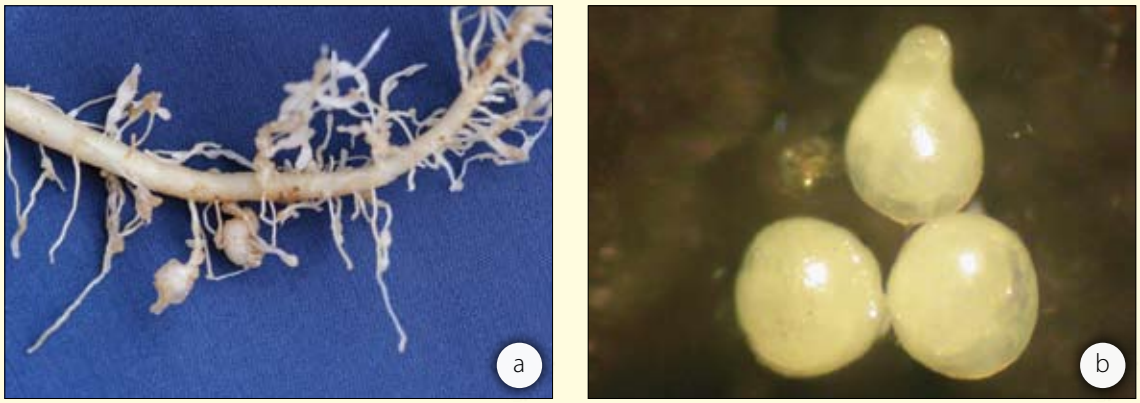
Tuyến trùng ký sinh thực vật là nguyên nhân của rất nhiều bệnh trên cây trồng ở Việt Nam (Nguyen 2003). Các bệnh thông thường nhất ở Việt Nam là tuyến trùng nốt sưng do các loài thuộc chi *Meloidogyne* và tuyến trùng gây vết thương nơi rễ do *Pratylenchus* và các loài khác (Hình 10.19).

Tuyến trùng nang gây hại ở rễ, gây hiện tượng mọc thêm rễ phụ. Các tuyến trùng nang cái có thể được phát hiện dễ dàng, bám vào bên ngoài rễ nơi rễ phụ mọc thành búi.

Tuyến trùng ký sinh thực vật thường gây hại ở bộ rễ, làm giảm quá trình hấp thụ nước và dinh dưỡng. Chúng thường gây triệu chứng còi cọc, năng suất thấp và đôi khi có biểu hiện vàng lá rõ rệt. Cây nhiễm tuyến trùng nặng có hiện tượng héo và tàn lụi trong điều kiện môi trường khắc nghiệt. Hiện tượng này phổ biến nhất ở cà chua bị tuyến trùng nốt sưng gây hại.

Tuyến trùng nốt sưng có thể được chẩn đoán trên đồng ruộng bằng các nốt sưng rõ rệt trên rễ.

Hình 10.19 Hệ thống rễ cây bị phá hủy do: (a) tuyến trùng nốt sưng, (b) tuyến trùng gây loét rễ, cả hai bệnh đều làm cây còi cọc và vàng lá



Hình 10.20 Các triệu chứng của tuyến trùng nốt sưng: (a) triệu chứng sưng rễ, (b) tuyến trùng cái ký sinh trong các nốt sưng

Khó nhận biết triệu chứng hại của tuyến trùng gây loét rễ ở rễ nhỏ trên đồng ruộng, nhưng có thể quan sát được các vết loét bằng kính lúp cầm tay. Dùng kính lúp soi nổi có thể quan sát được các vết loét dễ dàng hơn. Nếu nghi ngờ đối tượng gây hại là tuyến trùng gây loét rễ, có thể nhuộm màu rễ bệnh để quan sát sự có mặt của tuyến trùng dưới kính hiển vi. Tuyến trùng ký sinh và lấy thức ăn từ cây trồng được phân lập bằng các phương pháp tách tuyến trùng từ đất (xem Phần 10.7.1).

Các cây trồng có khả năng kháng đối với một số loài tuyến trùng nhất định thì không bị tuyến trùng đó gây hại và có khả năng ngăn chặn sự sinh sản của tuyến trùng ký sinh cây. Những ký chủ này giúp làm giảm mật độ tuyến trùng trong đất.

Các cây trồng có khả năng chịu đựng đối với một số loài tuyến trùng nhất định thì không bị tuyến trùng đó gây hại, nhưng lại cho phép tuyến trùng sinh sản. Những ký chủ này duy trì hoặc làm tăng nguồn tuyến trùng trong đất. Vì vậy, khi khuyến cáo các biện pháp phòng trừ cần hiểu biết về sự khác biệt này trong mối quan hệ ký chủ-tuyến trùng.

Tuyến trùng không bơi được. Chúng di chuyển trong đất hoặc rễ bằng cách uốn mình chuyển động như rắn dựa vào các phần tử đất hoặc mô cây. Tuyến trùng có thể được lan truyền theo dòng di chuyển của nước tưới, nhưng trong nước lặng chúng chìm xuống đáy. Chúng có thể di chuyển tất cả mọi hướng thông qua đất ướt để tìm rễ ký chủ.

Tuyến trùng có thể tồn tại khi không có ký chủ ở trạng thái ngủ nghỉ. Vào mùa khô, chúng thường di chuyển sâu hơn xuống dưới đất.

Đa số tuyến trùng ký sinh thực vật có phổ ký chủ rộng, nhưng mức độ mẫn cảm với bệnh thay đổi tùy từng loại ký chủ.

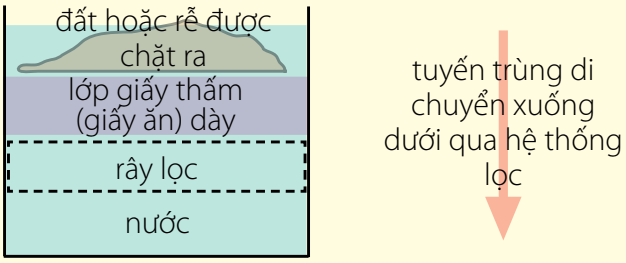
10.7.1 Tách tuyến trùng ra khỏi đất và rễ nhỏ.

Tuyến trùng không thể bơi trong nước. Đặc điểm này là cơ sở cho các phương pháp tách tuyến trùng đơn giản được mô tả dưới đây (Hình 10.21).

Phương pháp phễu Baerman

Phương pháp phễu Baerman này sử dụng thiết bị minh họa trong Hình 10.22.

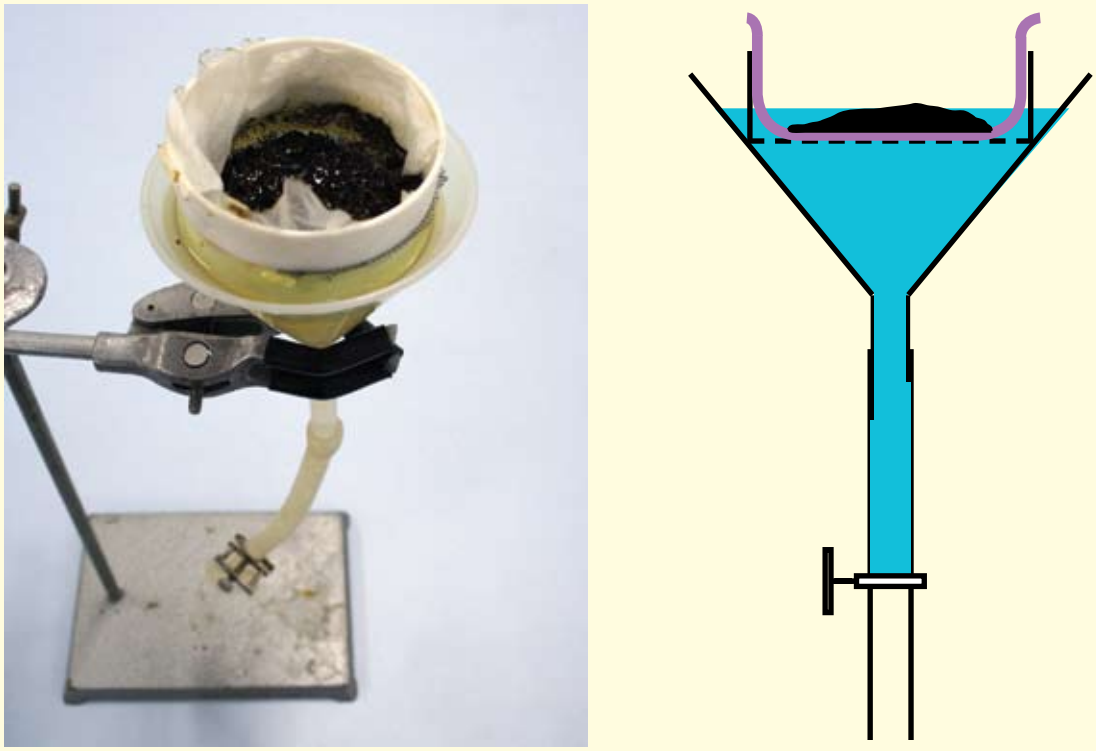
1. Lấy một lượng nhỏ đất từ một mẫu đất hỗn hợp (sau khi đã trộn đều 10 mẫu đất lấy từ vùng rễ của 10 cây).
2. Đổ từ từ lượng đất đó vào nước trong một phễu nhựa hoặc phễu thủy tinh có đặt một rây nhựa nhỏ với kích thước lỗ rây 1mm, phía trên lót giấy thấm. Không làm rách giấy.



Hình 10.21 Sơ đồ minh họa quy trình tách tuyến trùng từ rễ hoặc đất

3. Sau 24 giờ mở kẹp cho thoát 5mL nước từ ống sang một đĩa Petri nhỏ hoặc đĩa đếm. Tuyến trùng khi đó đã di chuyển từ đất ướt xuống qua giấy thấm vào trong nước. Bởi vì tuyến trùng không biết bơi, chúng sẽ chìm xuống và tích tụ ở đáy ống nhựa.
4. Dàn đều dung dịch tuyến trùng trên đĩa và kiểm tra dưới kính lúp soi nổi ở độ phóng đại lớn nhất, hoặc đưa sang một lam kính để kiểm tra dưới kính hiển vi.

Tuyến trùng ký sinh thực vật có thể được xác định nhờ sự có mặt của kim chích hút.



Hình 10.22 Bộ dụng cụ phễu Baerman để tách tuyến trùng

Phương pháp khay Whitehead

Phương pháp khay Whitehead cũng thường được sử dụng cho mẫu đất và rễ dùng thiết bị như minh họa trong Hình 10.23.

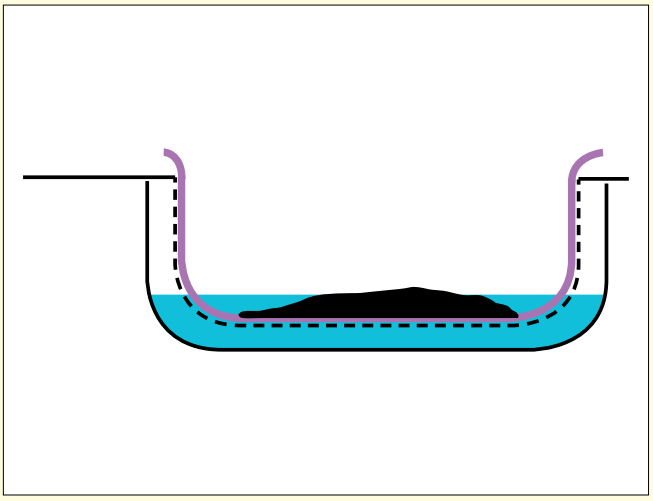
1. Đặt một rây lọc (loại thường dùng trong bếp gia đình) lên một cái bát to, trên rây lọc có lót một lớp giấy thấm dày.
2. Đổ nước vào rây sao cho mặt nước cách mặt rây khoảng 2cm.
3. Nhẹ nhàng đặt đất hoặc rễ trong nước trên rây. Chú ý không làm rách giấy. Tuyến trùng sẽ tập trung lại trong nước bên dưới lớp giấy thấm.

4. Sau 24 giờ, đổ nước vào một cốc đong hoặc lọ thủy tinh và để cho tuyến trùng lắng xuống đáy lọ.
5. Dùng pipet hút nước từ đáy lọ sang một đĩa Petri nhỏ để kiểm tra dưới kính lúp soi nổi.

Nhiều khả năng là cả tuyến trùng ký sinh và không ký sinh thực vật đều có mặt.

Những phương pháp này được xây dựng chủ yếu phục vụ cho việc chẩn đoán. Tuy nhiên, với kinh nghiệm và việc sử dụng các phương pháp lấy mẫu tiêu chuẩn, các cách phân lập tuyến trùng trên có thể giúp cung cấp các số liệu hữu ích về số lượng tuyến trùng. Khay Whitehead là phương pháp thích hợp nhất được sử dụng trong việc nghiên cứu số lượng.

Hệ thống lọc này có thể được làm từ các rây lọc và rá đỡ sẵn có bán trong các chợ và cửa hàng ở Việt Nam.



Hình 10.23 Bộ dụng cụ khay Whitehead để tách tuyến trùng

10.8 Bệnh do vi khuẩn gây ra

Nhiều loài vi khuẩn gây bệnh thực vật, trong khi các loài khác gây bệnh cho động vật và con người. Đa số vi khuẩn là hoại sinh và có mặt trong đất cũng như trong vật liệu hữu cơ với vai trò là tác nhân phân hủy.

Vi khuẩn gây bệnh cây là các vi sinh vật nhân nguyên thủy nhỏ có thể thấy được dưới kính hiển vi dùng vật kính ×100. Nhuộm màu vi khuẩn phù hợp sẽ dễ quan sát hơn. Chúng khá đa dạng về kích cỡ và hình thái; một số loài có lông roi và di chuyển được. Hầu hết vi khuẩn gây bệnh cây có thể được phân lập và nuôi cấy trên môi trường thích hợp.

Một tế bào vi khuẩn sinh sản bằng cách phân chia đơn giản thành hai tế bào. Vi khuẩn được nhân lên rất nhanh về số lượng trong các điều kiện thích hợp.

Các bệnh do vi khuẩn thường phổ biến ở những vùng nhiệt đới. Có rất nhiều bệnh do vi khuẩn gây ra, bao gồm héo vi khuẩn, đốm lá, cháy lá, u sưng và loét (Hình 10.24). Một số loài cũng gây thối nhũn ở rau quả trước và sau khi thu hoạch.

Các vi khuẩn gây bệnh cây thông thường ở Việt Nam bao gồm các chi *Ralstonia*, *Xanthomonas, Pseudomonas* và *Erwinia*. Một số vi khuẩn tồn tại trong hạt, một số khác trên cây giống nhiễm bệnh.

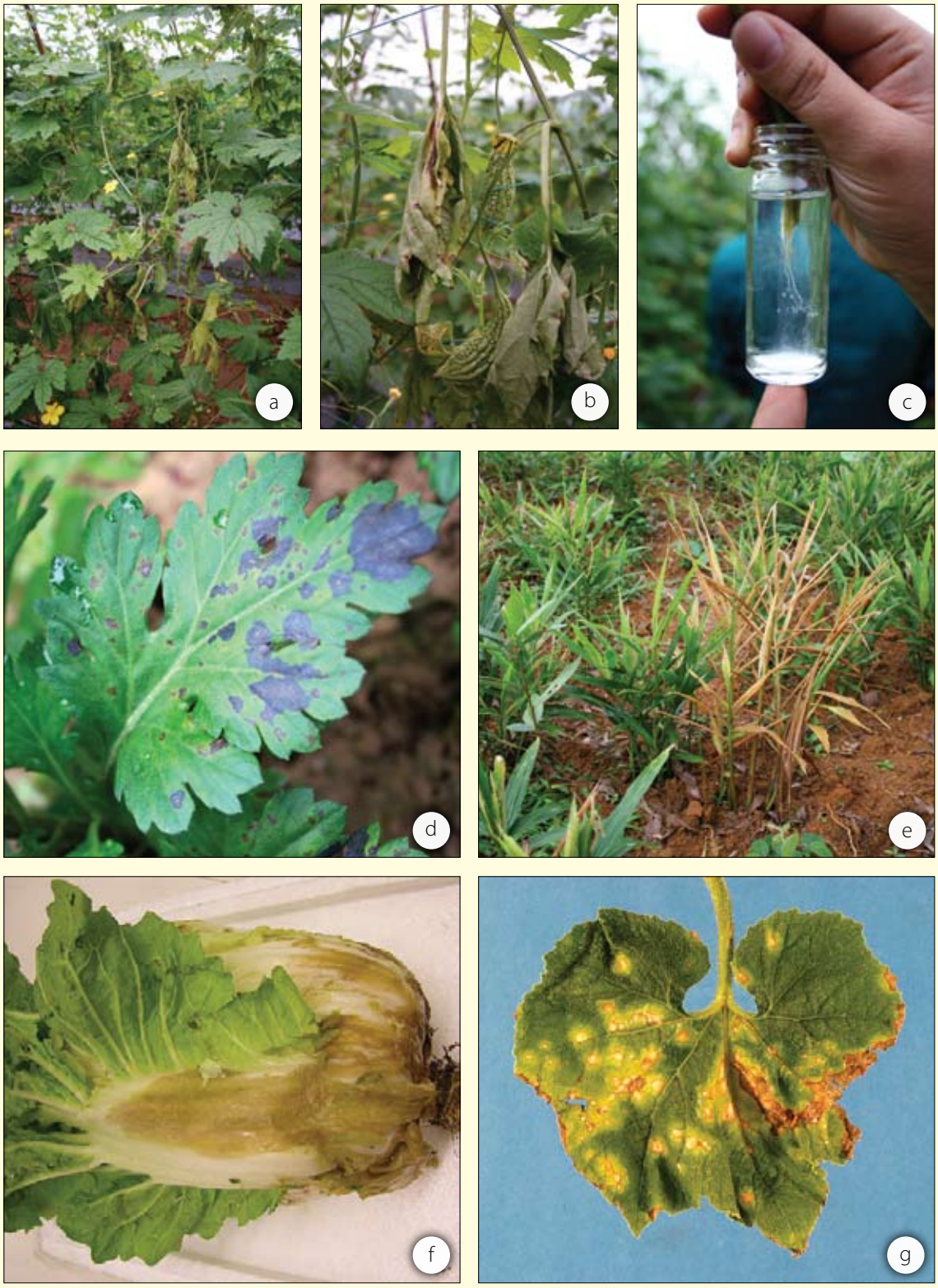
Dịch khuẩn là một dấu hiệu chỉ ra sự có mặt của vi khuẩn trong mô cây bệnh. Vi khuẩn gây bệnh có thể sản sinh ra dịch khuẩn trên các vết đốm lá trong điều kiện ẩm ướt và từ các mô mạch dẫn trong thân cây bị héo vi khuẩn.

10.8.1 Héo vi khuẩn

Héo vi khuẩn do *Ralstonia solanacearum* là một bệnh nghiêm trọng gây hại trên nhiều loại rau và cây trồng ở Việt Nam. Chẳng hạn như ở tỉnh Quảng Nam, héo vi khuẩn gây hại trên cà chua, ớt, cà tím, mướp đắng, thuốc lá và một số cây trồng, cỏ dại khác. Do có phổ ký chủ rộng, bệnh rất khó phòng trừ bằng biện pháp luân canh. Vi khuẩn này tồn tại lâu dài trên tàn dư ký chủ trong đất. *R. solanacearum* có thể lan rộng theo vật liệu làm giống nhiễm bệnh như khoai tây và gừng, theo cây con và dụng cụ làm ruộng cũng như động vật có dính đất.

Héo vi khuẩn có thể được chẩn đoán dựa vào mẫu cây héo trên đồng ruộng hoặc trong phòng thí nghiệm qua triệu chứng hóa nâu của mạch dẫn trong thân và sự xuất hiện dịch khuẩn. Nếu nhúng một đoạn cành mới cắt vào nước, những dòng dịch khuẩn dạng sợi trắng chảy ra trong nước.

Lưu ý là ngoài *R. solanacearum* cũng có các vi khuẩn khác gây bệnh héo.



Hình 10.24 Bệnh do vi khuẩn gây ra: (a-c) mướp đắng bị héo do vi khuẩn, (d) cháy lá do vi khuẩn, (e) *Ralstonia solanacearum* gây héo nhanh trên gừng, (f) thối nhũn cải thảo do *Erwinia aroideae*, (g) *Pseudomonas syringae* trên lá bầu bí

Các biện pháp phòng trừ bao gồm luân canh cây trồng như ngô và lúa, dùng cây giống sạch bệnh (cây con và cành giâm) và di chuyển hoặc đốt cây bệnh. Có một số giống lạc và các cây trồng khác có khả năng kháng bệnh. Bệnh héo vi khuẩn trên một số giống cây trồng mẫn cảm được phòng trừ bằng cách sử dụng cây giống với gốc ghép kháng bệnh.

10.8.2 Phân lập vi khuẩn gây bệnh cây

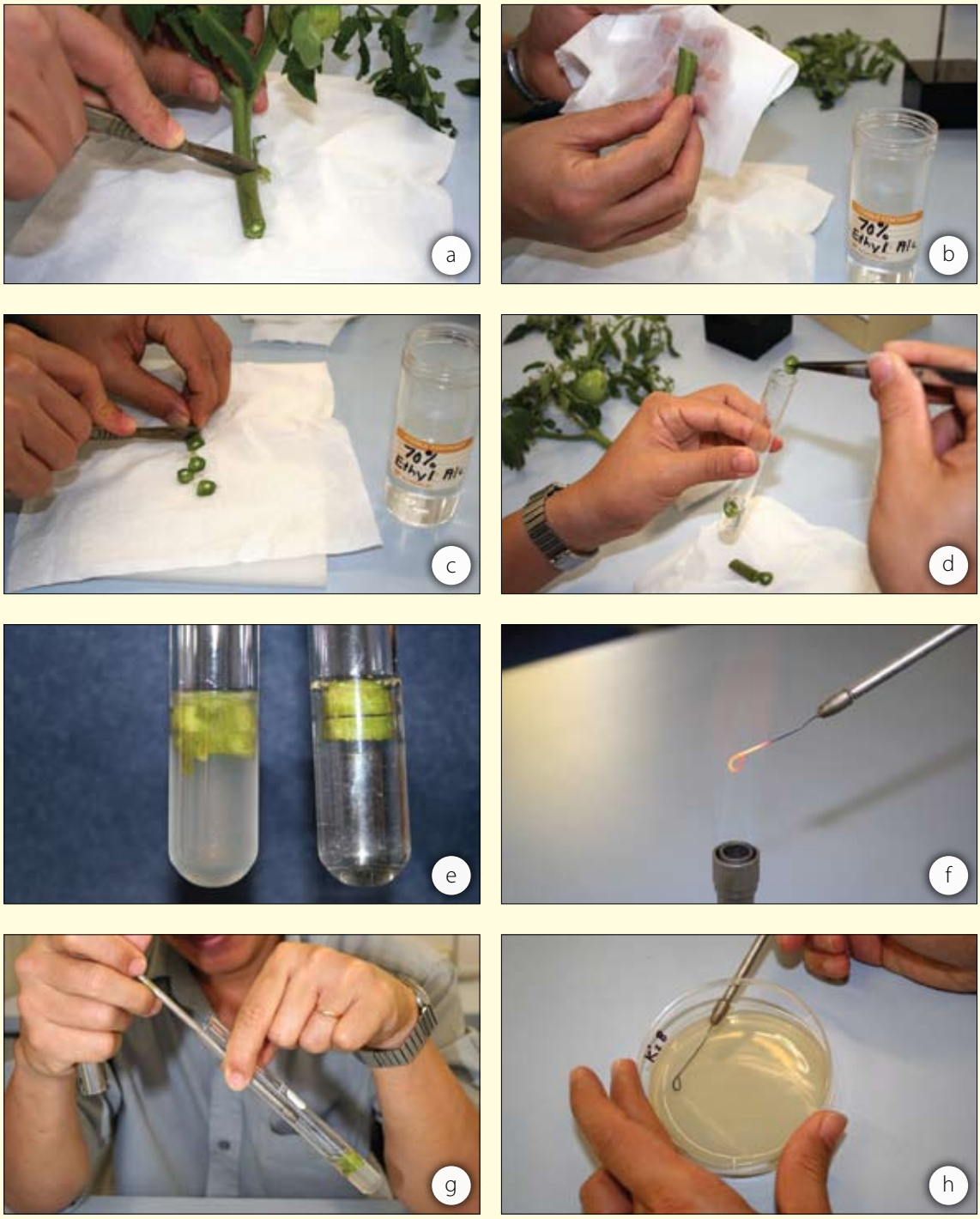
Héo vi khuẩn, đốm và cháy lá do vi khuẩn là những bệnh phổ biến ở Việt Nam. Nhiều vi khuẩn gây các bệnh này có thể được phân lập và làm thuần trong một phòng thí nghiệm cơ bản. Sau đó các mẫu thuần có thể được dùng để lây bệnh nhân tạo theo quy tắc Koch (xem Khung 8.1). Có thể gửi mẫu đến một phòng thí nghiệm vi khuẩn để xác định chính xác nguyên nhân nếu mẫu có khả năng gây bệnh. Việc giám định chính xác tới loài tốt nhất nên được thực hiện tại một phòng thí nghiệm chuyên môn.

Nên dùng môi trường King's B để phân lập các vi khuẩn gây bệnh phổ biến.

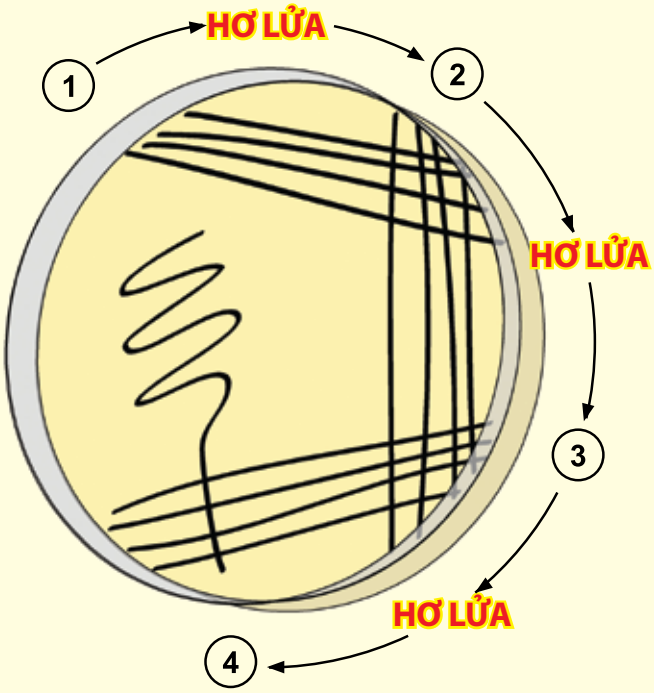
Quá trình phân lập *Ralstonia solanacearum*, nguyên nhân gây bệnh héo vi khuẩn

1. Cắt một đoạn thân cây bệnh dài khoảng 2-3cm, sau khi đã kiểm tra dịch khuẩn (Hình 10.25a).
2. Khử trùng bề mặt bằng cách dùng giấy thấm cồn êtyl 70% lau đoạn thân hoặc nhúng đoạn thân vào cồn êtyl 70% rồi hơ khô (Hình 10.25b).
3. Dùng dao mổ đã khử trùng cắt đoạn thân thành ba miếng (Hình 10.25c).
4. Đưa những miếng này vào trong một ống nghiệm chứa 10mL nước vô trùng (Hình 10.25d) và để yên cho đến khi dịch vi khuẩn ứa ra làm nước vẩn đục như sữa (Hình 10.25e).
5. Khử trùng que cấy khuẩn bằng cách hơ lửa đèn cồn rồi để nguội (Hình 10.25f).
6. Nhúng đầu que cấy vào dung dịch có chứa vi khuẩn (Hình 10.25g).
7. Cấy vi khuẩn lên đĩa môi trường King's B bằng cách chạm vào mặt thạch gần bên mép đĩa và vạch nhẹ nhàng 3-4 vạch trên mặt thạch (Hình 10.25h).
8. Khử trùng que cấy và để nguội.
9. Vạch nhẹ nhàng 3-4 vạch trên mặt thạch sao cho đầu que cấy đi ngang các vết vạch trước đó (Hình 10.26).
10. Làm lại các bước 8 và 9 một lần nữa, rồi vạch một đường cuối cùng hình chữ Z.
11. Đặt đĩa cấy ở nhiệt độ khoảng 25-30°C trong 2 ngày (Hình 10.27).
12. Kiểm tra đĩa để tìm những khuẩn lạc đơn nhỏ trên các vết vạch lần thứ ba hoặc thứ tư (Những khuẩn lạc lớn phát triển trong vòng 24 giờ không phải là *R. solanacearum*.
13. Dùng que cấy khuẩn đã khử trùng lấy một khuẩn lạc nhỏ và cấy lên môi trường King's B.
14. Để trong 2 ngày.

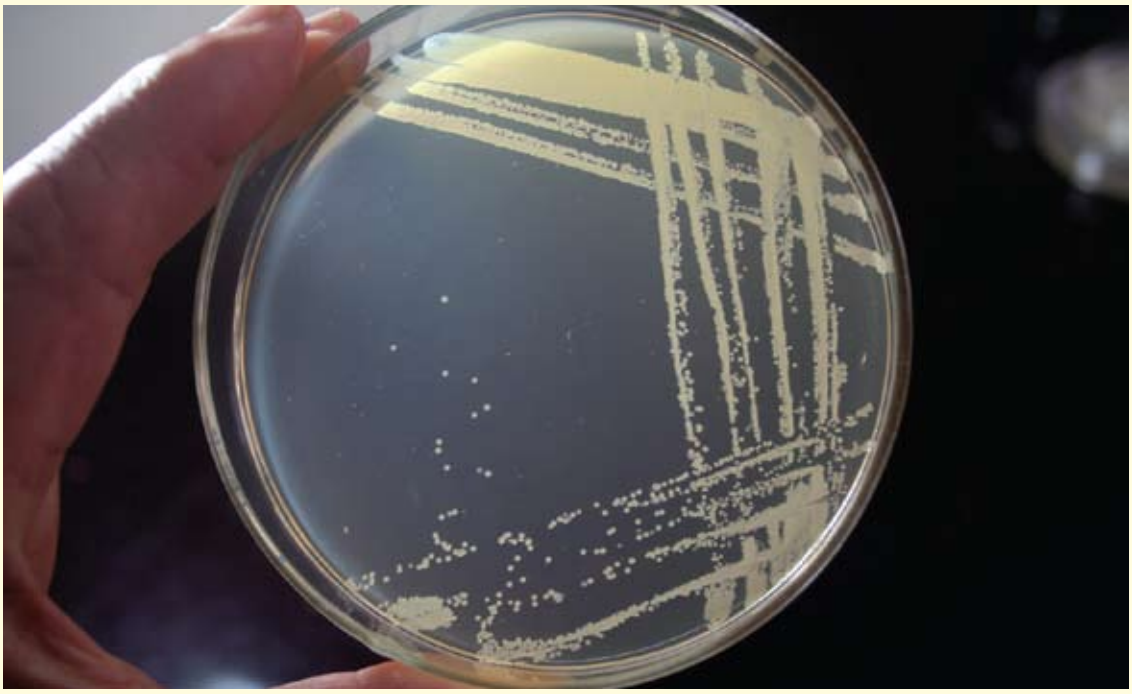
15. Cấy truyền một khuẩn lạc đơn mọc từ đĩa cấy mới sang một lọ McCartney hoặc ống nghiệm chứa môi trường King's B đổ nghiêng. Đây là những mẫu thuần và có thể sử dụng cho quá trình lây bệnh nhân tạo (xem ví dụ nghiên cứu cụ thể héo gừng trong Phần 3.1).



Hình 10.25 Phương pháp phân lập *Ralstonia solanacearum* từ thân bị bệnh



Hình 10.26 Sơ đồ minh họa đĩa cấy vi khuẩn, cho thấy thứ tự các vạch cấy và hơ lửa khử trùng que cấy giữa các bước



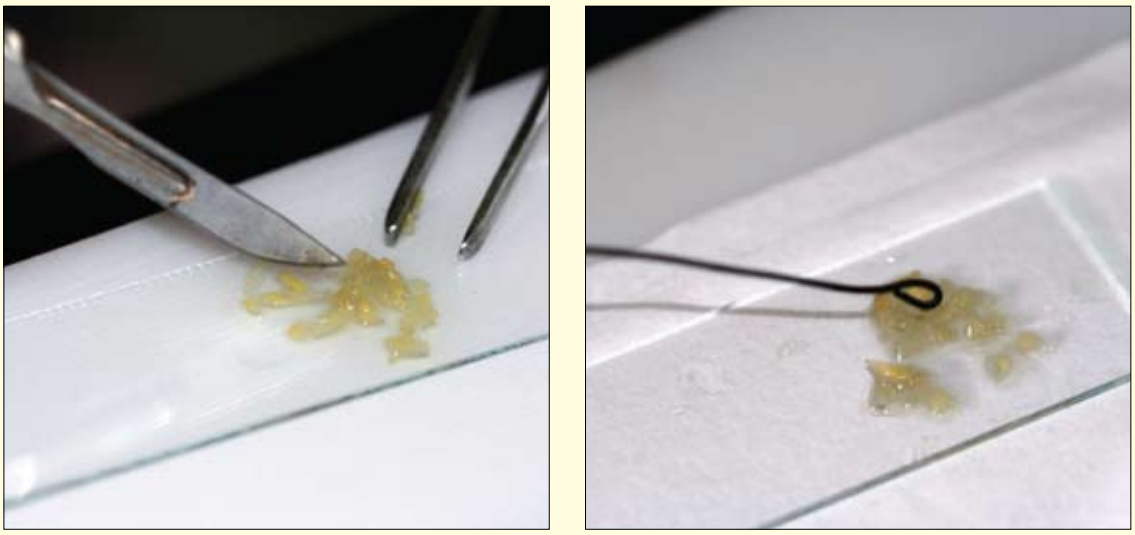
Hình 10.27 Đĩa cấy vi khuẩn phát triển sau 2 ngày ở nhiệt độ 25°C

Phân lập vi khuẩn từ vết đốm và cháy lá

1. Khử trùng bề mặt một lam kính và nhỏ một giọt nước vô trùng lên lam.
2. Nhẹ nhàng lau khử trùng bề mặt lá bằng giấy thấm cồn êtyl 70%.
3. Với dụng cụ đã được khử trùng, cắt một miếng nhỏ của vết đốm hoặc cháy lá, kể cả gân lá, và đưa sang giọt nước trên lam kính. Quan sát miếng cắt dưới kính hiển vi (vật kính X10). Nếu vết bệnh do vi khuẩn gây ra, thường sẽ thấy dịch khuẩn ứa ra từ chỗ gân lá bị cắt.
4. Cắt nhỏ, chà xát miếng cắt để giải phóng vi khuẩn vào giọt nước. Để khoảng 3-5 phút cho vi khuẩn có đủ thời gian giải phóng vào giọt nước.
5. Nhúng đầu que cấy khuẩn đã khử trùng vào giọt nước và cấy lên môi trường King's B như đã mô tả ở trên.
6. Làm thuần mẫu khuẩn như đã mô tả ở trên, thực hiện quá trình lây bệnh nhân tạo, và gửi mẫu sạch cho chuyên gia về vi khuẩn giám định chính xác nếu cần thiết.
7. Để thực hiện quá trình lây bệnh nhân tạo, phun dịch vi khuẩn sạch lên lá cây và để ẩm bằng cách bọc một túi nilon lớn. Không để ngoài nắng vì túi sẽ quá nóng, ngăn cản quá trình xâm nhiễm.

Phân lập vi khuẩn từ rễ hoặc thân rễ

Việc phân lập vi khuẩn từ rễ và thân rễ về căn bản tương tự như việc phân lập từ vết đốm và cháy lá (Hình 10.28). Tuy nhiên, mức độ khử trùng bề mặt thay đổi tùy theo độ dày của rễ và vi khuẩn cần phân lập. Nên gọt bỏ phần mô ngoài của rễ hoặc thân rễ trước khi khử trùng và phân lập.



Hình 10.28 Chà xát rễ hoặc thân rễ để chuẩn bị dịch vi khuẩn trước khi cấy

10.9 Bệnh do vi rút gây ra

Việc thảo luận chi tiết về vi rút gây bệnh cây nằm ngoài phạm vi của cẩm nang này. Cần tham khảo các tài liệu khác nếu nghi ngờ virút là tác nhân gây bệnh.

Mặc dù virút gây bệnh cây thường có các triệu chứng khá điển hình, việc giám định chúng thông qua việc sử dụng kỹ thuật phân tử hoặc các kỹ thuật chẩn đoán khác. Ký chủ chỉ thị có thể trợ giúp cho việc giám định.

Các phần tử vi rút thực vật rất nhỏ và không thể nhìn thấy được dưới kính hiển vi. Cần sử dụng kính hiển vi điện tử để quan sát các phần tử vi rút thực vật. Một phần tử vi rút thực vật được gọi là một virion. Vi rút có thể có hình sợi, hình cầu hoặc hình que. Tất cả các vi rút gây bệnh thực vật được cấu tạo từ axit nucleic, thường là ARN; tuy nhiên, một số cấu tạo từ ADN. Hầu hết vi rút có vỏ protein.

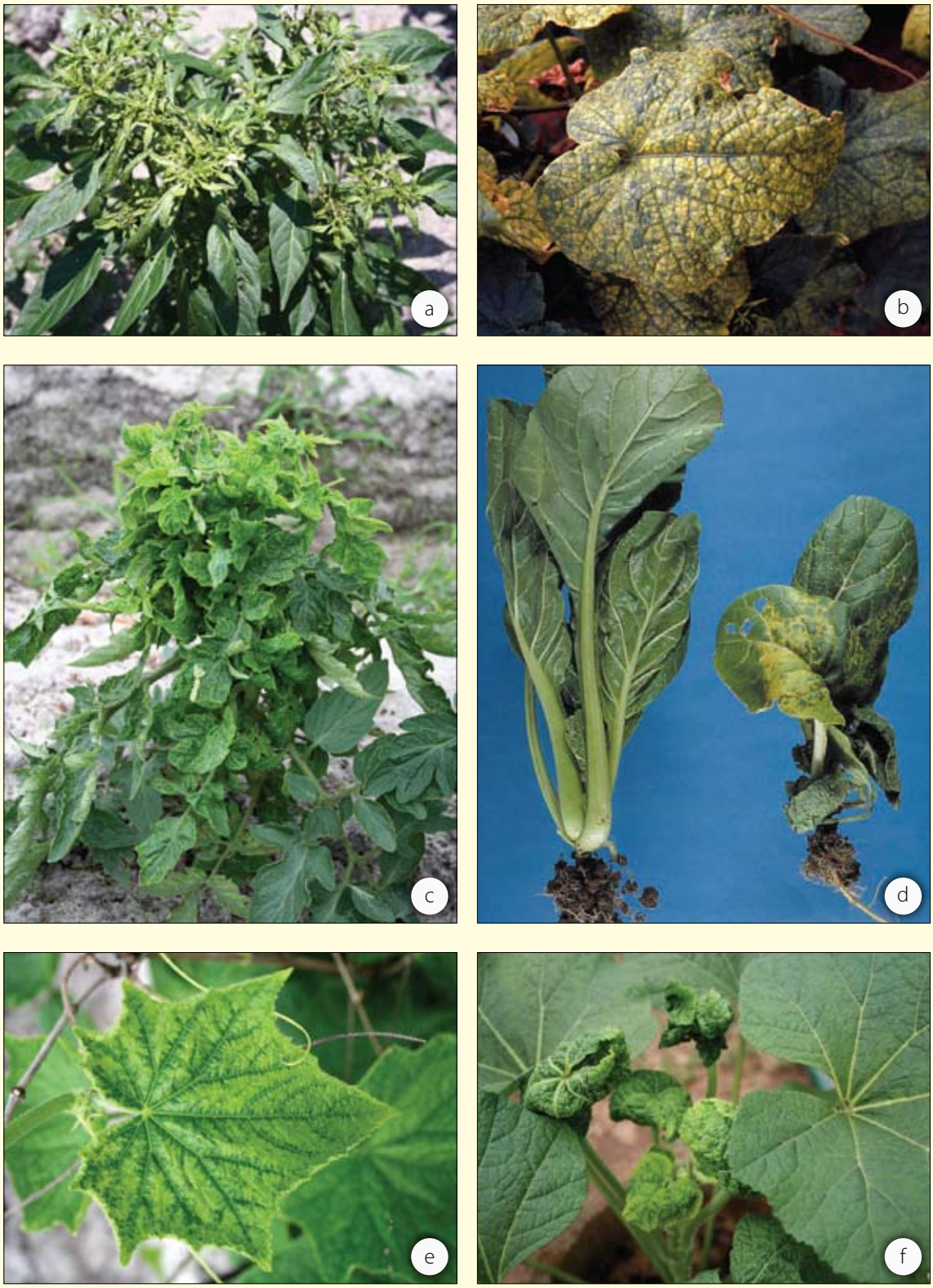
Không thể phân lập và nuôi cấy vi rút thực vật trên môi trường thạch, bởi vì chúng chỉ có thể tái tạo trong tế bào ký chủ còn sống.

Vi rút thực vật chỉ có thể xâm nhiễm vào tế bào cây ký chủ thông qua các vết thương nhỏ do sâu bọ hoặc các véc tơ khác, qua các vết thương cơ giới. Vi rút tái tạo trong tế bào cây, cản trở các hoạt động bình thường của tế bảo. Sự cản trở các tế bào cây tác động đến cây ký chủ và có thể đưa đến các triệu chứng rõ rệt. Các phần tử vi rút di chuyển từ tế bào này sang tế bào khác, lan đến các bộ phận khác của cây (Hình 10.29).

Cây có thể bị nhiễm nhiều vi rút cùng một lúc. Một số ký chủ bị nhiễm vi rút mà không biểu hiện triệu chứng.

Các triệu chứng bệnh do vi rút bao gồm cây còi cọc, biến vàng, khảm hoặc vằn lá, lá vàng hoặc có các vết loét, đốm vòng, lá biến dạng, lá cuốn, còi cọc, và trong một số trường hợp, gây chết cây. Một số triệu chứng do vi rút gây ra tương tự như các dấu hiệu rối loạn dinh dưỡng hoặc do các tác nhân khác gây ra.

Vi rút gây bệnh cây có thể lan truyền thông qua các véctơ côn trùng, rễ, thân củ giống nhiễm bệnh, gốc hoặc chồi giống sử dụng để ghép cây. Một số vi rút lan truyền qua hạt giống bị bệnh. Một số vi rút có thể được lan truyền một cách cơ học từ cây này sang cây khác thông qua các dụng cụ như dao ghép, kéo cắt cành (và với một số virút, qua tay người). Vi rút khảm lá thuốc lá dễ truyền lan qua dụng cụ cắt và tay người, và thậm chí có thể tồn tại trong điếu thuốc lá, lan truyền thông qua tay người.



Hình 10.29 Các bệnh do vi rút: (a) vi rút héo đốm cà chua ở ớt, (b) vi rút biến vàng củ cải đường ở dưa chuột, (c) vi rút vàng lá xoăn lá ở cà chua, (d) vi rút khảm củ cải ở cây ăn lá họ cải bắp (phải), cây khỏe (trái), (e) vi rút ở dưa chuột, (f) quăn lá do vi rút ở mãn đình hồng (*Althaea rosea*)

Việc giám định vi rút gây bệnh cây đòi hỏi phải có phòng thí nghiệm chuyên sâu. Các phòng thí nghiệm chẩn đoán cấp tỉnh ở Việt Nam nên yêu cầu trợ giúp từ Viện Bảo vệ thực vật trong việc chẩn đoán các bệnh do vi rút. Có một số bộ kít chẩn đoán cho một số vi rút để chẩn đoán nhanh trên đồng ruộng, nhưng các bộ kit này khá đắt tiền.

Khi không có mặt cây ký chủ, vi rút bảo tồn chủ yếu ở cỏ dại. Tuy nhiên, một số tồn tại trong hạt và có thể tìm thấy trong các cây nhân giống vô tính.

Việc phòng trừ bệnh vi rút tùy thuộc vào đặc tính của vi rút, phổ ký chủ, phương thức lan truyền và bảo tồn. Các biện pháp phòng trừ bao gồm:

- loại bỏ ký chủ cỏ dại của vi rút và véc tơ lan truyền
- phòng trừ véc tơ truyền vi rút trong vụ trồng
- sử dụng giống sạch bệnh
- dùng những hệ thống danh mục để cung cấp cây trồng sạch bệnh
- vệ sinh cây trồng tốt
  - giảm thiểu việc tiếp xúc với cây bệnh
  - khử trùng dụng cụ tỉa cây trước khi dùng

10.10 Tài liệu tham khảo

Erwin D.C. và Ribeiro O.K. 1996. Phytophthora diseases worldwide. American Phytopathological Society Press: St. Paul, Minnesota.

Drenth A. và Sendall B. 2001. Practical guide to detection and identification of *Phytophthora*. CRC for Tropical Plant Protection: Brisbane, Australia.